Darstellung und Eigenschaften der optisch aktiven Bromisovale

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Walther Lang

aus Stuttgart

1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547613_0053

Darstellung und Eigenschaften der optisch aktiven Bromisovale

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Walther Lang

aus Stuttgart

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 24. April 1969

Dekan: Professor Dr. A. Seilacher

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Auterhoff

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Graf

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meiner Frau

Meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. H. Auterhoff

danke ich für die Anregung zu diesem Thema und für die vielseitige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	D, L-Bromisoval	5
	Eigenschaften	6
III.	Darstellung der Enantiomere von Bromisoval	8
	1. Versuch der direkten Racematspaltung	8
	2. Synthese aus einer optisch aktiven Vorstufe	9
	a) Racematspaltung der α-Bromisovaleriansäure	10
	b) Gewinnung der (-)-α-Bromisovaleriansäure	13
	c) Gewinnung der (+)-α-Bromisovaleriansäure	14
	d) (+)-bzw. (-)-α-Bromisovaleriansäurechlorid	15
	e) (+)-bzw. (-)-Bromisoval	16
IV.	Racemisierung von (+)- und (-)-Bromisoval	19
V.	Die absolute Konfiguration von (+)- und (-)-Bromisoval	20
VI.	Pharmakologische Prüfung der optischen aktiven Bromisovale	23
	a) Methodik	28
	b) Statistische Auswertung des Hauptversuchs	29
	c) Metabolismus von Bromisoval	29
VII.	Zusammenfassung	33
VIII.	Experimenteller Teil	34
	Literaturverzeichnis	50

I. EINLEITUNG

Es kommt häufig vor, daß bei Verbindungen mit asymmetrischer Struktur die Enantiomere und das Racemat sich in ihrer Wirkung sowohl quantitativ als auch qualitativ unterscheiden. Die Ursache dafür ist im stereospezifischen Charakter des gesamten physiologischen Geschehens zu suchen: Einmal kann die Bildung von diastereomeren Transportverbindungen mit unterschiedlicher Löslichkeit eine unterschiedliche Resorption zur Folge haben. Weiter kann die Affinität des Gewebes im Erfolgsorgan oder in den Rezeptoren stereospezifisch sein, und schließlich können Geschwindigkeit und Abbau der beiden Enantiomere differieren.

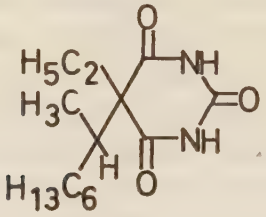
Dieser Wirkungsunterschied konnte erstmals festgestellt werden, als chirale Arzneistoffe, die bis dahin in der natürlich vorkommenden optisch aktiven Form Verwendung fanden, der Synthese zugänglich wurden. Die bei der Synthese meist erhaltenen Racemate entsprachen in der Wirkung oft nicht den Enantiomeren. Man war von da an einerseits bestrebt, bei der Synthese von Naturstoffen und diesen nachgebildeten Verbindungen das jeweils wirksamere Enantiomer darzustellen. Andererseits wurden nun auch rein synthetische chirale Verbindungen, die keinerlei natürliches Vorbild haben, in die Enantiomere gespalten, um deren Wirksamkeit zu vergleichen.

Um solche Verbindungen handelt es sich bei den Hypnotica. Hier sind insbesondere die Barbiturate und die Piperidindione mit asymmetrischer Struktur untersucht worden.

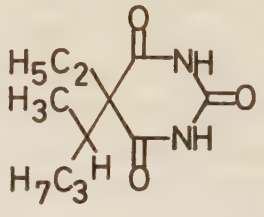
Hsuch und Marvel[1] stellten D- und L-5-Aethyl-5-sec.-octyl-barbitursäure (I) dar und verglichen die hypnotischen Eigenschaften der Enantiomere und des Racemats. Dabei fanden sie keinen signifikanten Wirkungsunterschied. Kleiderer und Shonle[2] untersuchten die von ihnen dargestellten Enantiomere

1) C.M. Hsuch und C.S. Marvel, J. Amer. chem. Soc. 50, 855 (1928)
2) E.C. Kleiderer und H.A. Shonle, J. Amer. chem. Soc. 56, 1772 (1934)

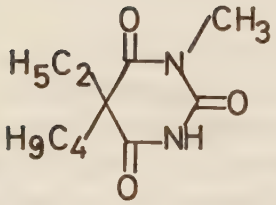
der 5-Propylmethylcarbinyl-5-aethyl-barbitursäure (II) und die N-substituierten 1-Methyl-5-butyl-5-aethyl-barbitursäure (III) und 1-Methyl-5-isoamyl-5-aethyl-barbitursäure (IV). Auch sie konnten nur geringe Wirkungsunterschiede feststellen.



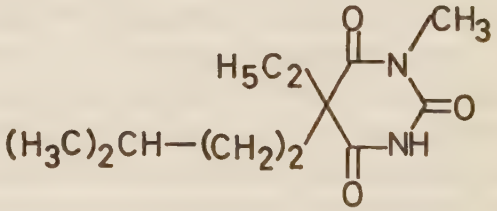
I



II

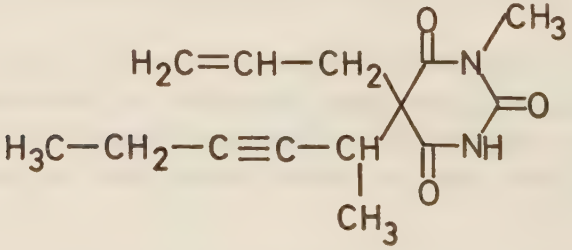


III



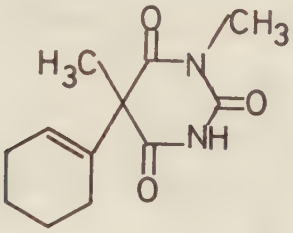
IV

Dagegen konnten Gibson und Mitarbeiter[3)] deutliche Wirkungsunterschiede bei den vier Stereoisomeren und den zwei Racematen der 1-Methyl-5-(1'-methyl-2'-pentinyl)-5-allyl-barbitursäure (V) beobachten.



V

Alle genannten Autoren stellten die Enantiomere aus optisch aktiven Vorstufen dar. Dagegen gelang Knabe und Kräuter[4] beim Hexobarbital (VI) über die Methylchinidiniumsalze erstmals die direkte Spaltung eines am C-5-Atom disubstituierten Barbiturats. Zur Gewinnung einer größeren Ausbeute gingen sie aber auch zur asymmetrischen Synthese über[5]. Die Wirkung des (+)-Hexobarbitals erwies sich als dreimal stärker als die der (-)-Form, obwohl ersteres schneller entmethyliert wird. Es konnte eine höhere Affinität des Gehirns für (+)-Hexobarbital festgestellt werden.



VI

Von den Piperidindionen sind Methyprylon, Glutethimid und Thalidomid in die optischen Antipoden gespalten und untersucht worden.

Die Spaltung von Methyprylon (VII) gelang Vogler und Kofler[6] durch spontane Kristallisation der Enantiomere. Sie stellten fest, daß die (+)-Form die etwas wirksamere ist.

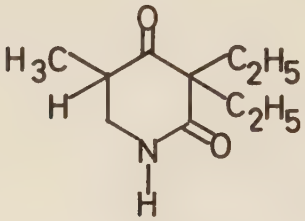
Bei Glutethimid (VIII), dessen Enantiomere von Keberle, Riess und Hoffmann[7] aus den Enantiomeren der 2-Phenyl-2-aethyl-glutarsäure dargestellt wurden, ist die (+)-Form zwei- bis dreimal wirksamer als die (-)-Form. Es konnte ein stereospezifischer Abbau festgestellt werden.

Die Enantiomere von Thalidomid (IX) wurden ebenfalls dargestellt[8].

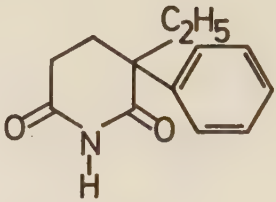
---

3) W.R. Gibson, W.J. Doran, W.C. Wood und E.E. Swanson, J. Pharmacol. exper. Therap. 125, 23 (1959)
4) J. Knabe und R. Kräuter, Arch. Pharmaz. 298, 1 (1965)
5) J. Knabe und D. Strauß, Angew. Chemie 86, 483 (1968)
6) K. Vogler und M. Kofler, Helv. chim. Acta 39, 1387 (1956)
7) H. Keberle, W. Riess und K. Hoffmann, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 163, 117 (1962)
8) Y.F. Shealy, C.E. Opliger und J.A. Montgomery, J. pharmac. Sci. 57, 757 (1968)

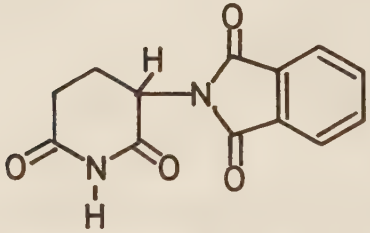
Über einen Unterschied bezüglich der hypnotischen Wirkung konnten in der Literatur keine Angaben gefunden werden.



VII

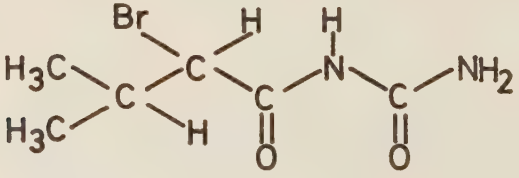


VIII



IX

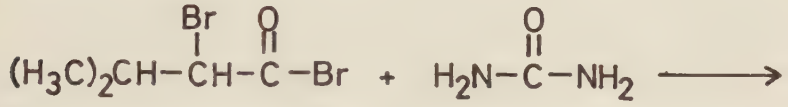
In der Reihe der offenkettigen Monoureide, die als leichte Hypnotica bzw. Sedativa verwendet werden, hat nur der Bromisovalerianylharnstoff, Int. Bez. Bromisoval, Bromural® ein Asymmetriezentrum (X). Es lag deshalb nahe, auch diese seit langem bekannte Verbindung auf einen eventuellen Wirkungsunterschied ihrer Enantiomere zu untersuchen und zu diesem Zwecke optisch zu spalten.

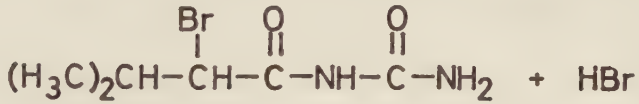


X

II. D-L-BROMISOVAL

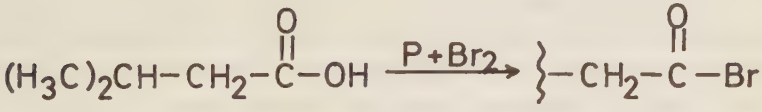
Bromisoval wurde erstmals von F. Saam[9] aus α-Bromisovaleriansäurebromid und Harnstoff synthetisiert.

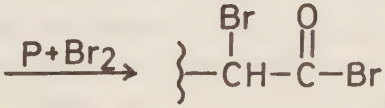




Die Darstellung wurde 1906 von der damaligen Fa. Knoll & Co zum Patent angemeldet[10].

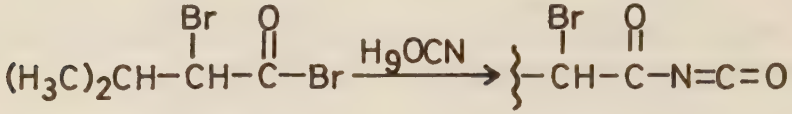
Die Darstellung nach F. Saam ist auch heute noch die meistverwendete[11]. Das α-Bromisovaleriansäurebromid wird nach Hell-Volhard-Zelinsky aus Isovaleriansäure mit rotem Phosphor und Brom gewonnen.

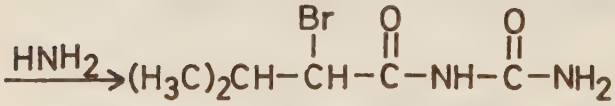




9) F. Saam, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 48, 143 (1907)
10) D.R.P. 185962 (3.3.1906)
11) G. Ehrhart und H. Ruschig, Arzneimittel, Verlag Chemie GmbH, Weinheim (Bergstraße) 1968, S. 302

Aus α-Bromisovaleriansäurebromid kann Bromisoval außer mit Harnstoff durch Umsetzung mit Quecksilber(I)-cyanat zum α-Bromisovalerianylisocyanat und Ammonolyse desselben dargestellt werden[12].





EIGENSCHAFTEN

Fast alle gebräuchlichen Identitätsreaktionen und titrimetrischen Gehaltsbestimmungen von Bromisoval beruhen mangels anderer charakteristischer Atome und Gruppen auf der leichten Abspaltbarkeit des Bromatoms. DAB 6, DAB 7-BRD und DAB 7-DDR weisen das auf verschiedene Weise abgespaltene Bromidion nach. Das DAB 7-BRD führt außerdem eine reduktive Abspaltung des Bromatoms durch und charakterisiert den entstandenen Isovalerianylharnstoff durch seinen Schmelzpunkt (202 - 206°). Alle erwähnten Pharmakopöen bestimmen den Gehalt von Bromisoval durch alkalische Abspaltung von Bromid und Titration desselben nach Volhard.

Der Schmelzpunkt von D,L-Bromisoval wurde von F. Saam[13] mit "145° bei gleichzeitiger Sublimation" angegeben. Der Schmelzpunkt des reinen Bromisovals ist 160°[14]. Die Angaben der Pharmakopöen, Lehrbücher und Nachschlagewerke liegen zwischen diesen Werten. Das DAB 6 nennt "unscharf 147 - 149°". Das DAB 7-BRD gibt als Schmelztemperatur

12) Knoll & Co, D.R.P. 275200
13) F. Saam, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 48, 143 (1907)
14) D'Ans-Lax, Taschenbuch für Chemiker und Physiker 3. Aufl. 1964, Bd. 2

in der Kapillare 150 - 155° an, der Schmelzbereich nach dem DAB 7-DDR beträgt 148 - 154°.

Einige Autoren weisen auf synthesebedingte Verunreinigungen hin, die den Schmelzpunkt erniedrigen können. Fourneau und Florence[15] fanden das Ureid der Methylaethylbromessigsäure. Yositomi und Watanabe[16] wiesen nach, daß Bromisoval mit einem Gehalt von 25% Isovalerianylharnstoff ein bei 152° schmelzendes Eutektikum bildet. Auch Alka und Tamminen[17] stellten fest, daß Bromisoval immer einen geringen Gehalt an Isovalerianylharnstoff aufweist. Bei eigenen Untersuchungen des verwendeten D,L-Bromisovals (Schmp. 153°) konnten allerdings durch DC keine Verunreinigungen nachgewiesen werden.

D,L-Bromisoval kommt andrerseits in zwei bis drei Kristallmodifikationen vor, die sich im Schmelzpunkt unterscheiden. Watanabe[18] erhielt eine "α-Form", triklin holoedrische Tafeln oder Schuppen (kein Schmelzpunkt) und zwei "β-Formen", rhombisch hemiedrische Nadeln vom Schmelzpunkt 147 - 148° bzw. 153 - 154°. Doser[19] fand 3 Modifikationen: Blättchen (Smp. 143°), feine Nadeln (Smp. 148°) und derbe Nadeln (Smp. 152°).

Bromisoval ist als Säure wie als Base sehr schwach dissoziiert. Dabei sind die sauren Eigenschaften infolge des Säureamidcharakters noch etwas stärker ausgeprägt als die basischen. So bildet es z.B. mit Alkalien lösliche Salze. Eine eigene potentiometrische Bestimmung der Dissoziationskonstante ergab für zweimal umkristallisiertes handelsübliches Bromisoval $K_S = 2,5 \cdot 10^{-9}$.

---

15) E. Fourneau und G. Florence, Bull. soc. chim. France 41, 1518-35 (1927)
16) E. Yositomi und K. Watanabe, J. pharm. Soc. Japan 41, 125 (1921)
17) A. Alka, Ann. Med. exp. Biol. fenn. 41, 95 - 102 (1963)
18) A. Watanabe, J. pharm. Soc. Japan 58, 566 (1938)
19) H. Doser, Arch. Pharmaz. 281, 251 (1943)

III. DARSTELLUNG DER ENANTIOMERE VON BROMISOVAL

1. VERSUCH DER DIREKTEN RACEMATSPALTUNG VON BROMISOVAL

Die Enantiomere sollten in einer zur pharmakologischen Prüfung ausreichenden Menge dargestellt werden. Von den zur Zeit bekannten Verfahren der Racematspaltung ist für die Darstellung größerer Mengen nur die Trennung durch Bildung von Diastereomeren mit Hilfe eines optisch aktiven Reaktanten und deren Fraktionierung geeignet. Die Diastereomere, die auf Grund ihrer unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften getrennt werden können, sollen sich leicht bilden und ebenso mühelos wieder zersetzen lassen.

Die am meisten verwendete Methode ist bei genügender Acidität oder Basizität der zu spaltenden Verbindung die Bildung eines kristallisierbaren Salzes mit einem optisch aktiven Partner.

Wegen des eher sauren als basischen Charakters von Bromisoval wurde deshalb zunächst versucht, eine direkte Trennung des racemischen Bromisovals mit den üblichen zur Spaltung verwendeten Alkaloidbasen zu erreichen. Als Spaltungsagenzien wurden verwendet: Chinin, Cinchonidin, Strychnin, Brucin, Ephedrin. In verschiedenen Lösungsmitteln wurde bei unterschiedlichen Bedingungen versucht, eine Salzbildung zu erreichen. Das Ergebnis war in jedem Fall negativ.

Bei verschiedenen Verbindungen mit schwach saurem Charakter, die mit einer einfachen Alkaloidbase nicht gespalten werden konnten, ist mit einer quaternisierten Base die Trennung gelungen[20]. Auf diesem Wege konnten z.B. Knabe und Kräuter die Spaltung des Hexobarbitals erreichen. Es wurde versucht, in gleicher Weise mit Bromisoval und N-Methylchininiumhydroxid eine Salzbildung zu erhalten. Auch hier wurden in verschie-

---

20) J. Knabe und R. Kräuter, Arch. Pharmaz. 298, 1 (1965)

denen Lösungsmitteln und bei unterschiedlichen Bedingungen Kristallisationsversuche unternommen. Eine Salzbildung konnte in keinem Fall erreicht werden.

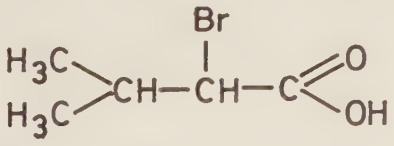
Die Bildung eines leicht spaltbaren Derivats ist bei Bromisoval ebenfalls nicht möglich. Es käme die Bildung eines Säureamids mit der freien NH_2-Gruppe in Frage. Bei der Zerlegung würde aber gleichzeitig auch die α-Bromisovaleriansäure abgespalten.

In seltenen Fällen konnte bei manchen Substanzen beim Animpfen der Lösung eines Racemats mit einem Enantiomer eine spontane Spaltung erreicht werden, die auch für die Darstellung größerer Mengen ausgenutzt wurde. Vogler und Kofler[21] trennten auf diesem Wege D, L-Methyprylon. Bei D, L-Bromisoval konnte nach dreimaligem Umkristallisieren des technischen Produkts nach Animpfen mit (+)- und (-)-Bromisoval keine wesentliche optische Drehung beobachtet werden.

2. SYNTHESE AUS EINER OPTISCH AKTIVEN VORSTUFE

Es blieb die Möglichkeit, die Enantiomere aus einer Verbindung darzustellen, die am asymmetrischen Kohlenstoffatom die gleichen Substituenten hat und entweder schon in der optisch aktiven Form vorliegt oder die Voraussetzung für eine Racematspaltung bietet.

Als Vorstufe bot sich die α-Bromisovaleriansäure an.

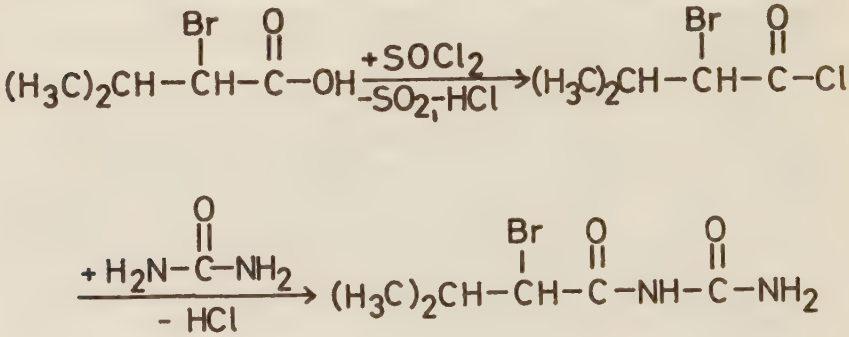


Sie liegt bei synthetischer Darstellung als Racemat vor, kann aber über die Bildung eines diastereomeren Salzpaares gespalten werden. α-Bromisovaleriansäure ist als α-Halogencarbonsäure relativ stark dissoziiert ($pK_S \sim 3$) und deshalb zur Salzbildung mit den üblichen basischen Spaltungs-

21) K. Vogler und M. Kofler, Helv. chim. Acta 39, 1387 (1956)

reagenzien gut befähigt.

Aus ihr läßt sich mit einem anorganischen Säurechlorid das Acylhalogenid bilden, das mit Harnstoff umgesetzt wird. Damit ist unter normalen Bedingungen keine Veränderung am Asymmetriezentrum verbunden.



a) Racematspaltung der α-Bromisovaleriansäure

Zur Spaltung der α-Bromisovaleriansäure wurden in der Literatur vier Methoden gefunden.

1.) Leven, Mori und Mikeska[22] trennten das Racemat durch Bildung des Cinchonidinsalzes und dessen fraktionierte Kristallisation aus Aceton. Das (-)-Säure-Cinchonidinsalz ist in Aceton schwerer löslich und kristallisiert zuerst. Es wurde deshalb in reinerer Form gewonnen als das Salz der (+)-Säure.

Spezifische Drehung der (-)-Säure: $[\alpha]_D^{20} = -7,7$ (Äther, c = 7), das entspricht $[\alpha]_D^{20} = -8,25$ (Benzol, c = 7).

Spezifische Drehung der (+)-Säure: $[\alpha]_D^{20} = +7,4$ (Äther, c = 6), das entspricht $[\alpha]_D^{20} = +7,95$ (Benzol, c = 6).

---

22) P. Leven, T. Mori und L. Mikeska, J. biol. chem. 75, 348 (1927)

2.) Umgekehrt liegen die Löslichkeitsverhältnisse bei der Methode von Berlingozzi und Furia[23], die die Brucinsalze aus wäßriger Lösung kristallisierten. Hier ist das (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz das schwererlösliche und deshalb reiner darstellbar.

Spezifische Drehung der (+)-α-Bromisovaleriansäure $[\alpha]_D^{20}$ = + 22,6 (Benzol, c = 4).

Spezifische Drehung der (-)-α-Bromisovaleriansäure $[\alpha]_D^{20}$ = - 21,6 (Benzol, c = 4).

3.) Berlingozzi und Lenoci[24] erhielten die Antipoden durch Bildung der L-Asparaginsäurederivate, die durch fraktionierte Kristallisation getrennt und dann mit Salzsäure gespalten wurden.

Spezifische Drehung der (-)-α-Bromisovaleriansäure $[\alpha]_D^{20}$ = + 22,4 (Benzol).

Für die spezifische Drehung der (+)-α-Bromisovaleriansäure wurde kein Wert angegeben.

4.) Die neueste Vorschrift stammt von Ovchinikov und Mitarbeitern[25], die als Spaltungsagenzien die Enantiomere von α-Phenylaethylamin (1-Methyl-benzylamin) verwendeten. Die Salze der beiden Enantiomere mit den α-Bromisovaleriansäureenantiomeren haben inverse Löslichkeitsverhältnisse. So bildet (-)-α-Phenyläthylamin mit (+)-α-Bromisovaleriansäure genauso ein schwererlösliches Salz wie (+)-α-Phenyläthylamin mit (-)-α-Bromisovaleriansäure. Auf diese Weise war es möglich, beide Formen in gleicher optischer Reinheit zu erhalten.

Spezifische Drehung der (-)-α-Bromisovaleriansäure $[\alpha]_D^{20}$ = - 23,0 (Benzol).

Spezifische Drehung der (+)-α-Bromisovaleriansäure $[\alpha]_D^{20}$ = + 23,0 (Benzol).

---

23) S. Berlingozzi und M. Furia, Gaz. chim. Ital. 56, 85 (1926)
24) S. Berlingozzi und R. Lenoci, Gaz. chim. Ital. 68, 727 (1938)
25) Y. Ovchinikov, V. Ivavov und A. Kiryushin, Izv. Akad. Nauk. SSSR, Otd. Khim. Nauk. 1962, 2046

	Spaltendes Agens	(+)-Säure $[\alpha]_D^{20}$ (Benzol)	c	(-)-Säure $[\alpha]_D^{20}$ (Benzol)	c
Leven, Mori u. Mikeska	Cinchonidin	+ 7,95	6	- 8,25	7
Berlingozzi u. Furia	Brucin	+ 22,6	4	- 21,6	4
Berlingozzi u. Lenoci	L-Asparaginsäure	--	-	- 22,4	-
Ovchinikov Ivanov u. Kiryushin	(-)-α-Phenyläthylamin	+ 23,0	-	--	-
	(+)-α-Phenyläthylamin	--	-	- 23,0	-

Tab. 1: Bisher angewandte Methoden zur Racematspaltung der α-Bromisovaleriansäure

Es wurde versucht, durch eine Kombination von Methode 1.) und 2.) beide Enantiomere in gleicher optischer Reinheit zu erhalten, da (-)-α-Bromisovaleriansäure mit Cinchonidin und (+)-α-Bromisovaleriansäure mit Brucin jeweils das schwererlösliche Salz bildet.

Die Verwendung zweier verschiedener Basen mit inversen Löslichkeitsverhältnissen ist vorteilhafter als die Spaltung mit (+)- und (-)-Form desselben Agens wie bei 4.). Es kann nämlich nicht ohne weiteres angenommen werden, daß ein Enantiomer, dessen spezifische Drehung sich beim weiteren Umkristallisieren nicht mehr ändert, optisch rein ist. Wenn sich aber die Drehwerte der mit Hilfe zweier verschiedener Spaltungsagenzien bis zur Drehungskonstanz gereinigten Enantiomere entsprechen, kann deren optische Reinheit als weitgehend gesichert gelten[26].

26) E.L. Eliel, Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen, Deutsche Ausgabe, Verlag Chemie GmbH, Weinheim (Bergstraße) 1966, S. 100

b) Gewinnung der (-)-α-Bromisovaleriansäure

Nach Leven, Mori und Mikeska wurden Cinchonidin und α-Bromisovaleriansäure im Molverhältnis 1 : 1 in siedendem Aceton gelöst. Das Salz kristallisierte beim Erkalten der Lösung in farblosen Nadeln. Je nach der Dauer des Erhitzens trat eine mehr oder weniger starke Verharzung des Cinchonidins auf, die nie ganz vermieden werden konnte. Sie wurde in Kauf genommen wegen des besseren Trenneffekts beim Umkristallisieren aus dem siedenden Lösungsmittel. Das Kristallisat wurde dadurch nicht verunreinigt, da die Verharzungsprodukte in Aceton leicht löslich waren. Es entstanden aber Schwierigkeiten bei der Weiterverarbeitung der Mutterlauge auf (+)-Säure.

Die erste Voraussetzung für die Gewinnung eines reinen Enantiomers ist, daß das zum Zwecke der Trennung gebildete diastereomere Salz solange umkristallisiert wird, bis sich sein Drehwert nicht mehr ändert. In der Literatur wird als Kriterium in der Regel der Drehwert des Diastereomers angegeben. Die spezifische Drehung der α-Bromisovaleriansäure beträgt $[\alpha]_D^{20} = \pm 23,0$ (Benzol, c = 5) d.h. nur etwa ein Fünftel der spezifischen Drehung des Cinchonidins ($[\alpha]_D^{20} = -112,6$ (Methanol, c = 3)). Eine Änderung des Drehwerts und damit der Reinheit der Säure ist am Drehwert des Salzes entsprechend schlecht abzulesen. Eine geringfügige Veränderung der stöchiometrischen Zusammensetzung des Salzes hat dagegen eine unverhältnismäßig große Änderung des Drehwerts zur Folge. Deshalb wurde das umständlichere aber genauere Verfahren gewählt, nach jeder Kristallisation einen Teil des Kristallisats zu zerlegen und die freigesetzte Säure zu messen.

Das α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz mußte sechsmal umkristallisiert werden, bis sich die spezifische Drehung der daraus freigesetzten Säure nicht mehr änderte ($[\alpha]_D^{20} = -23,0$ (Benzol, c = 5)).

Die relativ geringe Ausbeute an optisch reinem Salz (9% der Ausgangsmenge) erklärt sich aus der ebenfalls geringen Ausbeute pro Kristallisation (76,5%), wobei noch die Entnahme von jeweils 1,5-2 g des Salzes für die Kontrolle des Säuredrehwerts zu berücksichtigen ist. Dafür konnte bei einer Zu-

nahme der optischen Reinheit um $[\alpha]_D^{20} = -3,9$ pro Kristallisation die Zahl der Umkristallisationen relativ niedrig gehalten werden. Bei jeder Umkristallisation wurde eine zweite Kristallfraktion gewonnen, die ebenso wie die Mutterlaugen und die für die Messung entnommene Substanz im folgenden Ansatz verwendet wurde.

Aus dem optisch reinen (-)-α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz wurde (-)-α-Bromisovaleriansäure durch Freisetzen mit 2n H_2SO_4 und Ausschütteln mit Äther gewonnen. Die wäßrige Phase wurde auf Rückgewinnung des Cinchonidins verarbeitet.

c) Gewinnung der (+)-α-Bromisovaleriansäure

Aus der Mutterlauge der 1. Kristallisation des (-)-Säure-Cinchonidinsalzes wurde eine mit dem (+)-Enantiomer angereicherte Säure gewonnen. Sie war mit den Zersetzungsprodukten des Cinchonidins verunreinigt, welche die Kristallisation des Brucinsalzes verhinderten. Vermutlich zersetzte sich Brucin unter der Einwirkung der Verharzungsprodukte. Das Rohprodukt wurde deshalb durch Vakuumdestillation ($85^{\circ}/1$ Torr) gereinigt.

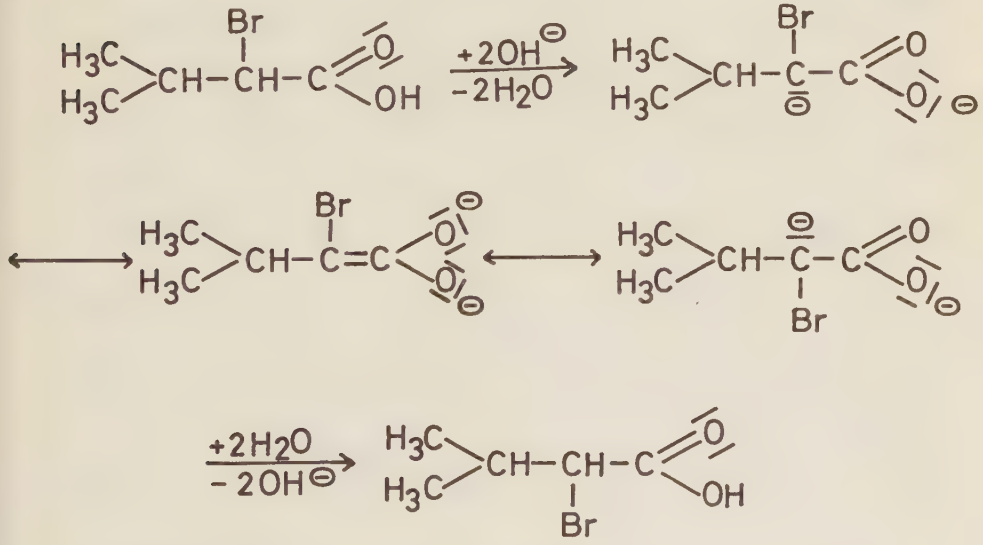
Nach Berlingozzi und Furia wurde die bei 30° bereitete wäßrige Lösung von destillierter Säure und Brucin (1 : 1 Mol) bei $30^{\circ}/15$ Torr auf die Hälfte eingeengt, wobei das Brucinsalz als feinkristalliner, farbloser Niederschlag anfiel. Bei der Anwendung höherer Temperaturen konnte vermutlich ebenfalls infolge Zersetzung des Brucins keine Salzbildung erreicht werden.

Nach siebenmaligem Umkristallisieren des Salzes blieb der Drehwert der (+)-Säure konstant ($[\alpha]_D^{20} = +23,0$ (Benzol, c = 5)). Da Ovchinikov mit (+)- und (-)-α-Phenyläthylamin ebenfalls $[\alpha]_D^{20} = \pm 23,0$ erhielt, kann sehr weitgehend angenommen werden, daß die Enantiomere optisch rein sind. Der optische Reinigungseffekt war geringer als bei der Cinchonidinsalzkristallisation (Zunahme der spezifischen Drehung pro Kristallisation $[\alpha]_D^{20} = +2,75$ gegenüber $[\alpha]_D^{20} = +3,9$). Die Ausbeute pro Kristallisation war etwas höher (78% statt 76,5%) und somit auch die Ausbeute an optisch reinem Salz (10,5% gegenüber 8,9%). Auch hier muß berücksichtigt werden, daß sämtliche Kristallfraktionen und Mutterlaugen sowie die für Messungen entnommenen Substanzen beim nächsten Ansatz verwendet wurden.

Aus dem reinen (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz wurde die (+)-α-Bromisovaleriansäure mit 2n H_2SO_4/Äther freigesetzt. Aus den wäßrigen Phasen der Ausschüttelungen wurde das Brucin wiedergewonnen.

d) (+)- bzw. (-)-α-Bromisovaleriansäurechlorid

Die Säurechloride wurden dargestellt durch Erhitzen der Säuren mit 1,5 Mol Thionylchlorid auf 1 Mol Säure unter Zusatz einiger Tropfen Dimethylformamid[27] als Katalysator. Das zuerst verwendete Pyridin[28] ergab auf Grund seiner stärkeren Basizität Racemisierung. Das H-Atom am asymmetrischen Kohlenstoffatom ist wegen der benachbarten Carboxylgruppe beweglich, weshalb bei Anwesenheit von basischen Agenzien eine basisch katalysierte Racemisierung eintrat:



27) Organicum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 2. Auflage 1964, S. 387

28) Houben-Weyl-Müller, Methoden d. org. Chemie, G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1955, Bd. VIII, S. 469

Nach Abziehen des überschüssigen Thionylchlorids wurde das α-Bromisovaleriansäurechlorid durch Vakuumdestillation (48°/12 Torr) von Nebenprodukten gereinigt.

e) (+)- bzw. (-)-Bromisoval*)

(+)- bzw. (-)-α-Bromisovaleriansäurechlorid setzten sich beim mehrstündigen Stehenlassen bei Raumtemperatur mit Harnstoff im Überschuß in exothermer Reaktion zum (+)- bzw. (-)-α-Bromisovalerianylharnstoff um, die mehrmals aus siedendem Wasser umkristallisiert wurden.

Das aus reiner (-)-α-Bromisovaleriansäure ($[\alpha]_D^{20} = -23,0$) dargestellte (-)-Bromisoval zeigt die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -29,5$ (Methanol, c = 2), das aus reiner (+)-α-Bromisovaleriansäure ($[\alpha]_D^{20} = +23,0$) dargestellte (+)-Bromisoval $[\alpha]_D^{20} = +29,5$ (Methanol, c = 2).

Als Schmelzpunkt von (+)- und (-)-Bromisoval wurde mit dem Kofler-Mikroskopheiztisch 165° gefunden. Der Mischschmelzpunkt von (+)- und (-)-Bromisoval (Gewichtsverhältnis 1 : 1) entspricht mit 160° dem Schmelzpunkt des reinen D,L-Bromisoval.

Anders als das Racemat kristallisieren die Enantiomere aus Wasser in langen, farblosen Nadeln, die sich bei 120° in feinere Nadeln umlagern. Bei 160° bilden sich derbe Nadelbüschel aus, die bei 165° schmelzen.

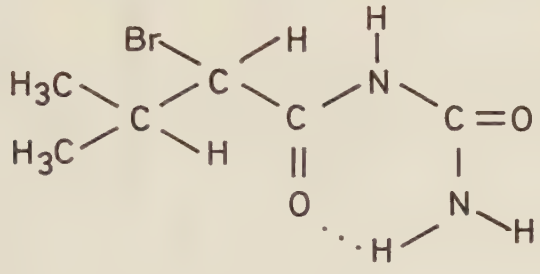
Bei der DC (Kieselgel HF_{254}, Cyclohexan-Chloroform-Pyridin (20+60+5)) zeigen (+)-, (-)- und rac.-Bromisoval den gleichen Rf-Wert 0,55.

Die IR-Spektren von (+)- und (-)-Bromisoval sind deckungsgleich. Die Banden sind gegenüber dem Racemat z.T. verschoben. Insbesondere die relative Lage der NH_2- und CO-Valenzschwingungsbanden, sowie die übrigen in der Tabelle 10 aufgeführten Zuordnungen lassen den Schluß zu, daß die

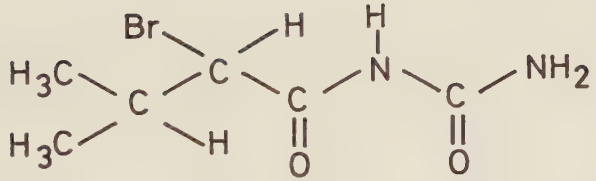
---

*) Nach Abschluß der präparativen Arbeiten wurde beim Literaturstudium festgestellt, daß Senoh (S. Senoh, J. Pharmac. Soc. Japan 71, 798 - 800 (1951)) auf einem ähnlichen Wege (Spaltung von D,L-Bromisovaleriansäure mit D- bzw. L-Methamphetamin) (+)- und (-)-Bromisoval ($[\alpha]_D^{20} = \pm 26$ (Äthanol, c = 3)) darstellte (entspricht nach eigenen Messungen $[\alpha]_D^{20} = \pm 26$ (Methanol, c = 3)). Es handelte sich somit nicht um die reinen Enantiomere.

Enantiomere in festem Zustand in der trans-cis-Form (I) vorliegen, dagegen das Racemat überwiegend in der trans-trans-Form (II)*).



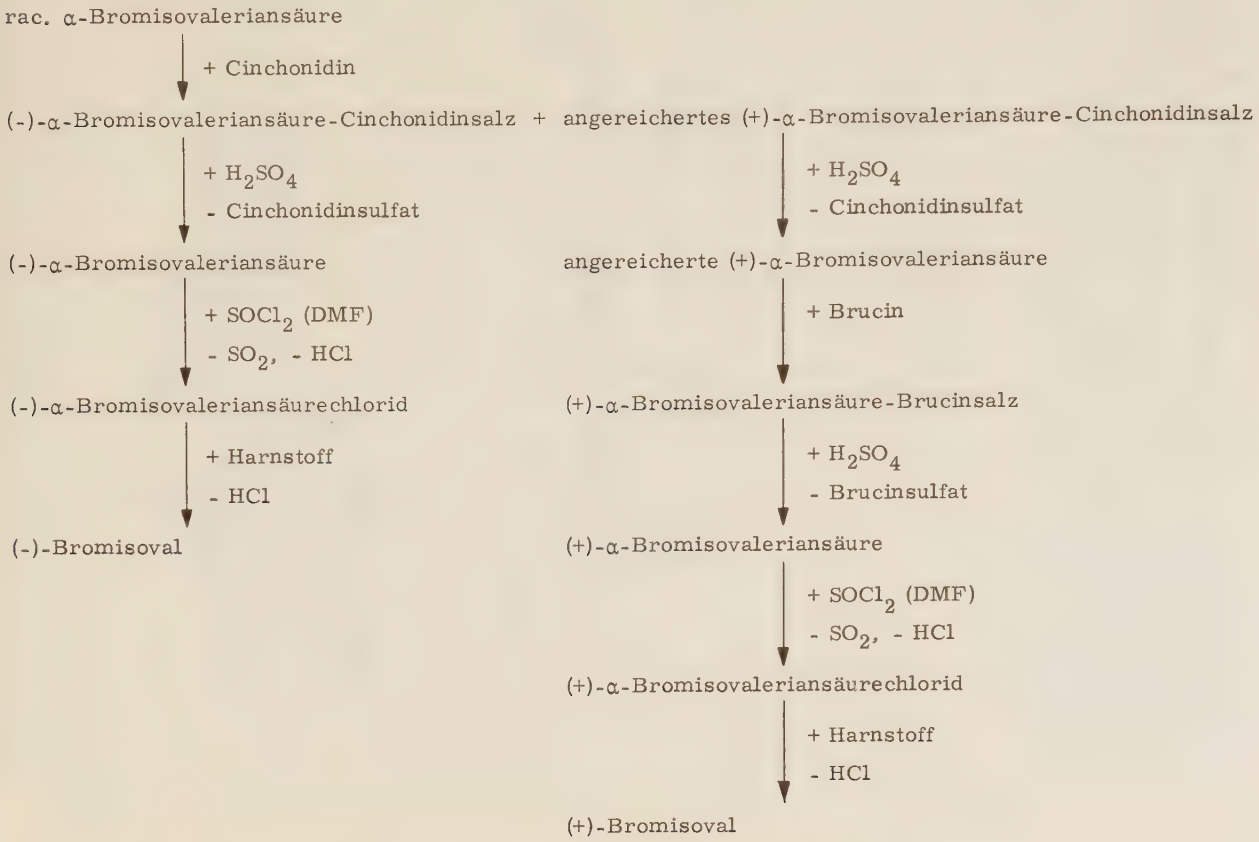
I



II

*) Für die Diskussion der IR-Spektren danke ich Herrn Privatdozent Dr. F. Moll herzlich.

Darstellung der Bromisovalenantiomere



IV. RACEMISIERUNG VON (+)- UND (-)-BROMISOVAL

Angesichts der leichten Racemisierbarkeit von (+)- und (-)-α-Bromisovaleriansäure in Anwesenheit katalytischer Mengen von Pyridin (s. S. 15) wurde das Drehverhalten von (-)-Bromisoval in Abhängigkeit von pH-Wert und Temperatur untersucht.

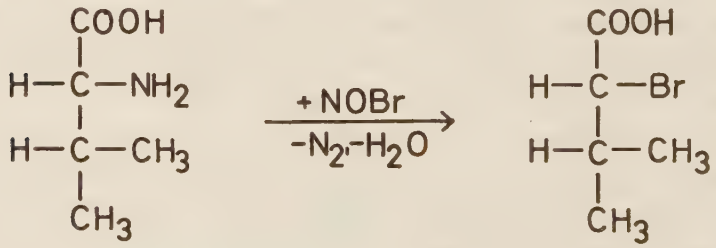
In 0,1 n NaOH trat auch bei Raumtemperatur erwartungsgemäß sofort vollständige Racemisierung ein. Die Lösung in 0,5 n Ammoniak zeigte ebenfalls nach 24 Std. bei Raumtemperatur keine Drehung mehr. Dagegen blieb das Drehvermögen in Anwesenheit von Pyridin (10%ige Lösung), Dimethylformamid (10%ige Lösung), 0,1 n HCl bei Raumtemperatur und in Wasser bei 50° nach 24 Std. unverändert.

Nach kurzzeitigem Erhitzen in Wasser auf 100° trat ebenfalls keine erkennbare Veränderung des Drehwerts auf. Dagegen erfolgte bei 24stündigem Erhitzen auf 100° eine Umkehr der Drehung auf $[\alpha]_D^{20} = + 38$. Bei (+)-Bromisoval trat eine analoge Umkehr auf $[\alpha]_D^{20} = - 38$ ein.

Bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung der invertierten Lösungen zeigte sich, daß sie praktisch kein Bromisoval mehr enthielten. Dagegen fanden sich vier Zersetzungsprodukte, die nicht weiter untersucht wurden. Sie sind, wie ebenfalls durch DC festgestellt wurde, nicht identisch mit den Zersetzungsprodukten der Nachweisreaktionen von DAB 6 und DAB 7-BRD (Isovalerianylharnstoff). Es dürfte sich jedoch um Hydroxyverbindungen handeln, die durch Hydrolyse unter Walden'scher Umkehr entstanden sind.

V. DIE ABSOLUTE KONFIGURATION VON (+)- UND (-)-BROMISOVAL

Der erste Hinweis auf die Konfiguration der α-Bromisovaleriansäure stammt von E. Fischer und Scheibler[29]. Sie vermuteten, daß bei der Darstellung von (+)-α-Bromisovaleriansäure aus dem linksdrehenden "l-Valin" mit Nitrosylbromid keine Walden'sche Umkehr erfolgt und ordneten die (+)-α-Bromisovaleriansäure der L-Reihe zu. Die meisten Autoren beziehen sich darauf. Barrow und Ferguson[30] haben 1935 aber das (-)-Valin der D-Reihe zugeordnet. Die konfigurative Verknüpfung zur (+)-α-Bromisovaleriansäure wurde von Brewster[31] 1950 bestätigt. Damit kommt dieser die D-Konfiguration zu. Die (-)-Säure besitzt L-Konfiguration.

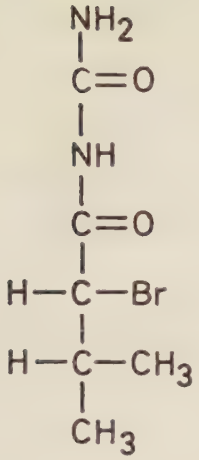


D-(−)-Valin D-(+)-Bromisovaleriansäure

Da bei der Darstellung der optisch aktiven Bromisovalenantiomere aus den α-Bromisovaleriansäureenantiomeren eine Veränderung am Asymmetriezentrum ausgeschlossen werden kann, muß das (+)-Bromisoval der D-Reihe, das (-)-Bromisoval der L-Reihe zugeordnet werden.

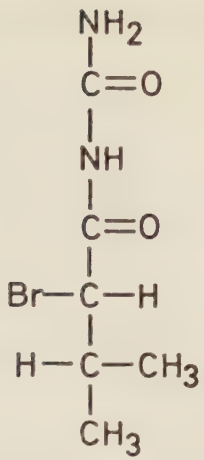
---

29) E. Fischer und H. Scheibler, Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 890 (1908)
30) F. Barrow und G. Ferguson, J. chem. Soc. (London) 1935, 410
31) P. Brewster, Nature (London) 166, 180 (1950)



D–Bromisoval

$[\alpha]_D^{20} = +29{,}5$



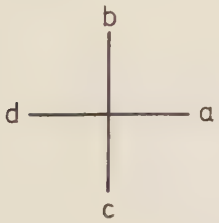
L–Bromisoval

$[\alpha]_D^{20} = -29{,}5$

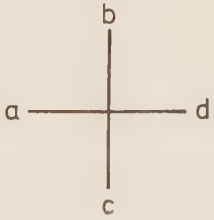
Nach den Regeln von Cahn-Ingold-Prelog ergibt sich für die Substituenten am asymmetrischen Kohlenstoffatom des Bromisovals folgende Rangordnung:

a = Br, b = $CONHCONH_2$, c = $(CH_3)_2CH$ d = H

In der nach E. Fischer geschriebenen Formel (siehe oben) sind die Substituenten folgendermaßen angeordnet:

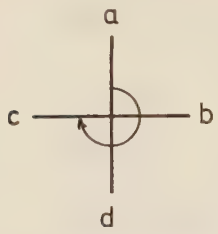


D–Bromisoval

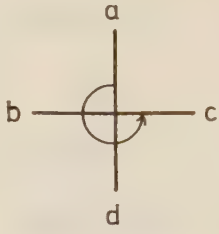


L–Bromisoval

Austausch der Substituenten führt zu folgender Anordnung:



D–Bromisoval
= R–Bromisoval



L–Bromisoval
= S–Bromisoval

D-Bromisoval mit der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{20} = +29,5$ hat somit R-Sequenz, L-Bromisoval mit der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{20} = -29,5$ hat S-Sequenz.

VI. PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNG DER OPTISCH AKTIVEN BROMISOVALE*)

Die pharmakologischen Eigenschaften von Bromisoval wurden erstmals von Krieger und van der Velden[32] beschrieben. Es wird seither je nach Dosierung (die Angaben schwanken zwischen 0,3 und 1,5 g beim erwachsenen Menschen) als Sedativum bzw. leichtes Hypnoticum verwendet. Die Wirkung tritt 10 bis 25 Minuten nach der Einnahme ein und hält 3 bis 4 Stunden an.

An Versuchstieren läßt sich nach den Angaben der meisten Autoren eine eindeutige hypnotische Wirkung nicht oder nur bei massiver Dosierung erreichen. Bei den in diesem Versuch verwendeten Mäusen trat eine völlige Narkose unter Verlust des Stellreflexes erst bei der sehr hohen Dosierung von 200 mg/kg D,L-Bromisoval (i.p. in Cremophorsuspension verabreicht) ein. Wegen der langsamen Eliminierung von Bromisoval und der dadurch bedingten langanhaltenden Lähmung der lebenswichtigen Zentren wirkte diese Dosis aber bereits letal.

Ein Wirkungsvergleich der Enantiomere konnte also nicht mit der bei kurz- oder mittellang wirksamen Hypnotica üblichen Bestimmung der Schlafzeit durchgeführt werden. Deshalb mußte eine der für Sedativa gebräuchlichen Prüfmethoden gewählt werden, die darauf beruhen, daß die Dämpfung einer bestimmten zentralgelenkten Funktion durch das Sedativum gemessen wird. Die meisten hier verwendeten Verfahren, wie Motilitätsmessung im Zitter-

---

*) Die vorliegende pharmakologische Untersuchung konnte ich am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen durchführen. Dem Leiter des Instituts, Herrn Professor Dr. F. Lembeck, möchte ich für die großzügige Ermöglichung des Versuchs danken. Herrn Dozent Dr. D. Winne und Herrn Dr. H. Ochsenfahrt bin ich für die Beratung und Unterstützung bei der Durchführung des Versuchs, Herrn Dr. Ochsenfahrt außerdem für die Ausführung der Probitanalyse zu besonderem Dank verpflichtet.

32) H. Krieger und R. v. d. Velden, D. Med. Wochenschrift 1907, Nr. 6

käfig, Messung der Wirkung auf Fluchtreflex, Haltereflex und Schreckreaktion, Analgesierung beim hote-plate-test sind mit erheblichem apparativem und personellen Aufwand verbunden. Bei der vorliegenden Untersuchung wurde als Testmethode die Messung der Hemmwirkung der zentral sedativ wirkenden Bromisovalenantiomere auf die Krampfhäufigkeit nach Gabe eines Analepticums durchgeführt. Da es sich nur um einen quantitativen Wirkungsvergleich handelt, und die sedierenden Eigenschaften auf zentralnervöse Funktionen sich im allgemeinen proportional verhalten, dürfte die Beschränkung auf eine Methode gerechtfertigt sein. Der Versuch wurde an Mäusen vorgenommen. Als Analepticum wurde Pentetrazol verwendet.

Der Test wurde in der Weise durchgeführt, daß allen Versuchstieren eine Pentetrazoldosis gegeben würde, die bei 100% der nicht mit Bromisoval behandelten Kontrollgruppe einen eindeutigen Krampfanfall erzeugte. Die Testsubstanzen wurden in steigender Dosierung mehreren Versuchsgruppen verabfolgt. Für jede Gruppe wurde die Anzahl der Tiere festgehalten, die keinen Krampfanfall zeigten, und daraus die mittleren Hemmdosen (ED_{50}) berechnet, mit Hilfe derer die Wirksamkeit der Enantiomere verglichen wurde.

Zur Ermittlung der niedrigsten Pentetrazoldosis, die bei 100% der verwendeten Tiere mit Sicherheit einen Krampfanfall hervorruft, wurde in einem ersten Vorversuch eine Dosis-Wirkungsbeziehung für Pentetrazol aufgestellt. 6 Versuchsgruppen zu je 10 Tieren wurden mit in geometrischer Reihe ansteigenden Dosen Pentetrazol i.p. behandelt. Als 100%ige Krampfdosis wurde 104 mg/kg ermittelt.

Pentetrazol mg/kg	gekrampft	nicht gekrampft	†
40	0	10	0
48	5	5	0
57	6	4	0
71	8	2	0
86	9	1	0
104	10	0	9

Tab. 2: Ermittlung der 100%igen Pentetrazol-Krampfdosis

Um den ungefähren Wirkungsbereich von Bromisoval gegen Pentetrazol festzulegen, wurde im zweiten Vorversuch die Wirkung des Racemats untersucht. Drei Gruppen zu je 10 Tieren wurden steigende D, L-Bromisovaldosen und nach einer halben Stunde 104 mg/kg Pentetrazol injiziert. Eine Kontrollgruppe erhielt nur Pentetrazol. Bei Gabe von 150 mg/kg D, L-Bromisoval krampften 5 der 10 Tiere. Der Versuch konnte wegen der geringen Zahl der verwendeten Tiere nicht in die Auswertung aufgenommen und deshalb die Ergebnisse auch nicht zum Vergleich mit denen des Hauptversuchs herangezogen werden.

	Pentetrazol	Bromisoval	gekrampft	nicht gekrampft	†
	104	100	9	1	2
	104	150	5	5	0
	104	200	0	10	0
Kontroll-gruppe	104	0	10	0	9

Tab. 3: Krampfunterdrückende Wirkung von D, L-Bromisoval

Von der im zweiten Vorversuch ermittelten ungefähren ED_{50} für D, L-Bromisoval ausgehend, wurde von beiden Enantiomeren jeweils einer Gruppe von 10 Mäusen 142 mg/kg gegeben. D-Bromisoval ergab bei 40% der Tiere Krampfhemmung, L-Bromisoval bei 100%. Bei Gabe von 71 mg/kg L-Bromisoval zeigten noch 80% der Tiere Krampfhemmung. Durch Vergleich mit der im Vorversuch aufgestellten Dosis-Hemmkurve für D, L-Bromisoval wurden die für die statistische Berechnung günstigen, d.h. zwischen 20 und 80% Hemmung bewirkenden Dosen für den Hauptversuch ermittelt. Diese wurden den auf 20 bis 30 Tiere vergrößerten Versuchsgruppen gegeben. Eine Kontrollgruppe von 30 Tieren erhielt nur Pentetrazol.

Die Ergebnisse des Hauptversuchs wurden im Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Abszisse dargestellt. Die rechnerische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Probitverfahrens nach H. Gaddum[33]. Hierbei werden,

33) L. Cavalli-Sforza, Grundbegriffe der Biochemie, G. Fischer Verlag, Stuttgart 1964

ausgehend von der zeichnerisch ermittelten vorläufigen Dosis-Wirkungsgeraden im Probitnetz, einer Transformation des Wahrscheinlichkeitsnetzes, nach dem Prinzip der orthogonalen Vergleiche Regression, Linearität, Parallelität, Vertrauensgrenzen und Wirkungsunterschied berechnet. Die Versuchspunkte werden dabei nach ihrer Lage und nach der Anzahl der für die betreffende Gruppe verwendeten Tiere bewertet, wobei die der ED_{50} am nächsten liegenden Punkte den größten Aussagewert haben.

L-Bromisoval mg/kg	Pentetrazol mg/kg	Anzahl Tiere	ge-krampft	nicht gekrampft	Krampf-hemmung bei % Tieren	†
42	104	17	14	3	17,5	4
46	104	10	7	3	30,0	1
71	104	27	8	19	70,4	0
142	104	10	0	10	100,0	0

Tab. 4: Krampfunterdrückende Wirkung von L-Bromisoval

	D-Brom-isoval mg/kg	Pente-trazol mg/kg	Anzahl Tiere	ge-krampft	nicht ge-krampft	Krampf-hemmung bei % Tieren	†
	120	104	17	12	5	29,4	1
	142	104	28	18	10	35,8	1
	200	104	17	6	11	64,7	0
Kontroll-Gruppe	0	104	30	30	0	0	29

Tab. 5: Krampfunterdrückende Wirkung von D-Bromisoval

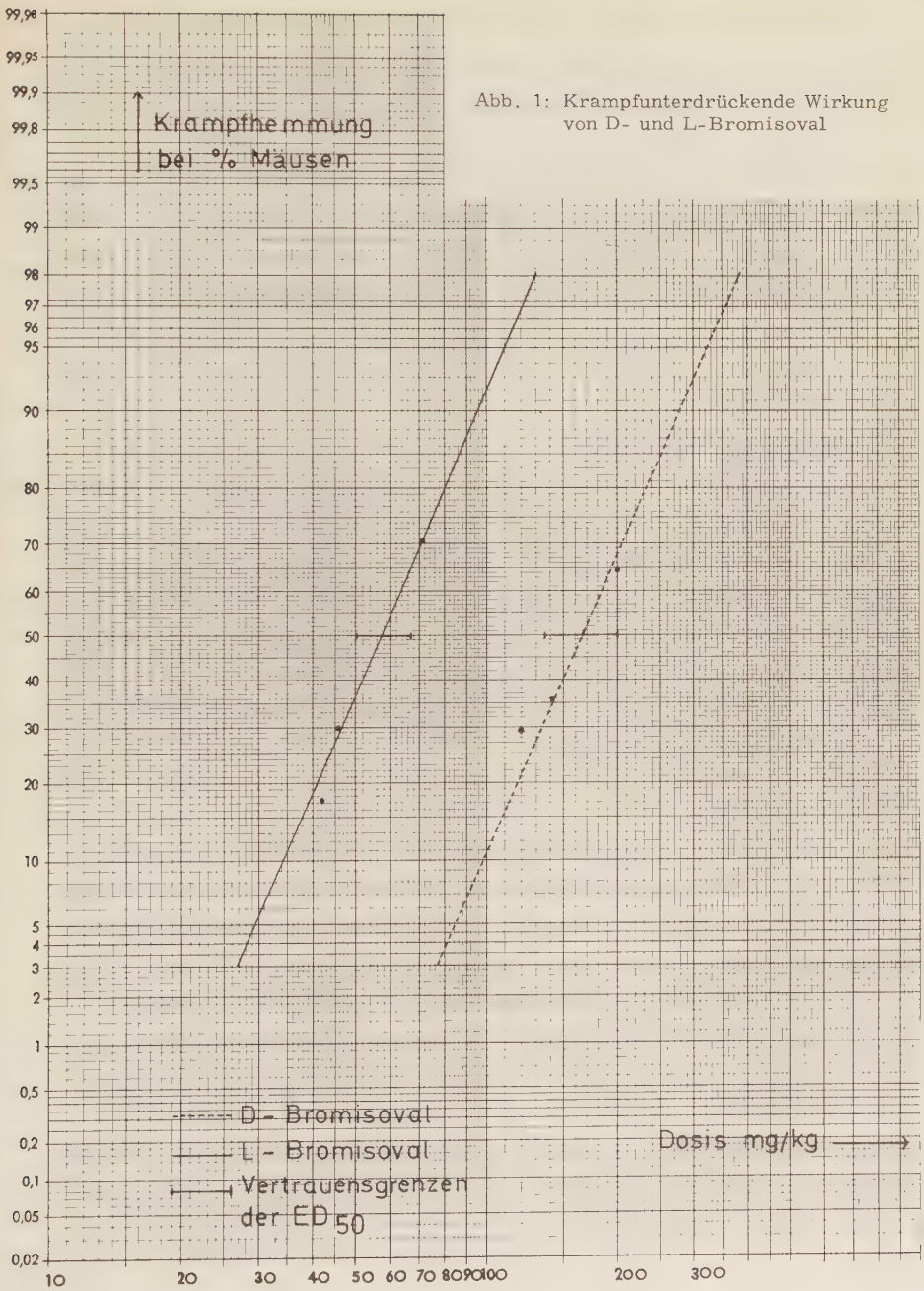


Abb. 1: Krampfunterdrückende Wirkung von D- und L-Bromisoval

a) Methodik

Versuchstiere: 250 männliche NMRI-Mäuse (Fa. Egon Jautz, Kisslegg, Allgäu)

Testsubstanzen: L-Bromisoval: $[\alpha]_{546}^{20}$ = - 33 (enthält noch 4,2% D-Bromisoval)
D-Bromisoval: $[\alpha]_{546}^{20}$ = + 30 (enthält noch 8,4% L-Bromisoval)
rac.-Bromisoval: Handelsübliches Produkt Schmp. 153°
Pentetrazol: Cardiazol® -Substanz der Fa. Knoll AG Ludwigshafen

Applikation der Testsubstanzen:

Pentetrazol wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (Volumen 0,1 ml/10 g Körpergewicht) und i.p. linksseitig injiziert.

Die Bromisovalenantiomere bzw. das Racemat wurden in fein zerriebenem Zustand mit Cremophor EL in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert (60 mg Cremophor/1 ml Lösung). Zur Verhinderung auch geringer Dosierungsunterschiede durch Sedimentation wurde die Suspension bei jeder Entnahme durch Magnetrührer in Bewegung gehalten. Sie wurde ebenfalls i.p., aber rechtsseitig injiziert.

Beobachtungszeit:

Die Applikation von Pentetrazol erfolgte 1/2 Stunde nach der des Bromisovals, da Bromisoval erst nach ca. 20 Minuten seine maximale Wirkung erreicht, die infolge seiner langsamen Elimination 3 - 4 Stunden bestehen bleibt.

Zu einem Krampf kam es in allen Fällen innerhalb der ersten halben Stunde nach der Cardiazolapplikation, einige Tiere starben auch in dieser Zeit. Als positiv wurde nur ein eindeutiger, anhaltender Krampfanfall gewertet.

b) Statistische Auswertung des Hauptversuchs

Mit Hilfe der Probitanalyse wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

Der Wirkungsunterschied ist signifikant mit P = 0,05. Die Prüfung auf Heterogenität der Versuchspunkte (Zahl der Dosen k = 7) verlief negativ ($\chi^2_{(k-y)}$ = 0,8443). Die Parallelität der Wirkungsgeraden ist gegeben: (χ^2_1 = 0,3872). Der Schätzwert des Titers beträgt 5,4256. Als mittlere Hemmkonzentration (ED_{50}) für D-Bromisoval ergab sich 165,4 mg/kg. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit α = 0,05 betragen die Vertrauensgrenzen 136,0 - 201,3 mg/kg. Für L-Bromisoval wurde die ED_{50} 57,8 mg/kg berechnet (Konfidenzbereich für α = 0,05 : 50,3 - 66,4 mg/kg).

Für den Wirkungsunterschied von D- und L-Bromisoval ergab sich somit:

L-Bromisoval war 2,8mal wirksamer als D-Bromisoval

(Konfidenzbereich 2,3 - 3,6 für α = 0,05)

c) Metabolismus von Bromisoval

Ein Grund für den Wirkungsunterschied zweier Enantiomere kann der verschiedenartige Abbau im Körper sein, wie er für Glutethimid festgestellt wurde. Es interessierte deshalb, was bisher über den Metabolismus des Bromisovals bekannt geworden ist.

Eine schon seit langem diskutierte Abbaureaktion ist die Abspaltung des Bromatoms. Sie wurde zuerst nur auf Grund klinischer Befunde vermutet. Bei Personen, die über längere Zeit Bromisoval in höherer Dosierung zu sich nahmen, wurden die Symptome des Bromismus beobachtet. Ursprünglich wurde sogar die pharmakologische Wirkung dem abgespaltenen Bromidion zugeschrieben. Das wurde jedoch schon von Takeda[34] (1911) widerlegt, der eine Abhängigkeit der sedativen Wirkung von der Konzentration des unveränderten Bromisovals im Gehirn feststellte. 1957 fand Wallheim[35] 94 - 98% des organisch gebundenen Broms als Bromid im Harn

34) S. Takeda, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 21, 203 - 11 (1911)
35) F. Wallheim, Acta physiol. scand., Suppl. 42, 138 - 39 (1957)

wieder. Das debromierte Produkt, 3-Methylbutyrylharnstoff, wurde erstmalig von Alka und Tamminen[36] aus der Leber eines Vergifteten isoliert und mit Hilfe von DC und IR identifiziert. Lindfors[37] isolierte es aus den Faeces eines Vergifteten, Alka aus Organen und Darm von Vergifteten und aus den Faeces von Versuchspersonen neben einem größeren Anteil unveränderten Bromisovals. Alka konnte die Möglichkeit nicht ausschließen, daß es sich bei dem gefundenen 3-Methylbutyrylharnstoff um eine synthesebedingte Verunreinigung des verabfolgten Bromisovals handelte.

Dagegen konnten Jindra[38] und Mitarbeiter beim verwandten Carbromal nachweisen, daß die Debromierung in der Leber stattfindet und die Abbaugeschwindigkeit von der Konzentration von SH-Substanzen wie Glutathion und Cystein abhängig ist. Er folgerte daraus, daß der Abbaumechanismus einer Thiolyse ähnlich sein muß.

K. Haruna[39] isolierte als Bromisovalmetaboliten S-(Isopropyl-carboxymethyl)-cystein aus Frauenharn und identifizierte es durch DC. Die Existenz dieses Abbauproduktes läßt vermuten, daß obiger Abbaumechanismus auch für Bromisoval gilt. Bei diesem Metaboliten ist außerdem die Säureamidbindung gespalten, eine Abbaureaktion, die von Jindra auch bei Carbromal festgestellt wurde.

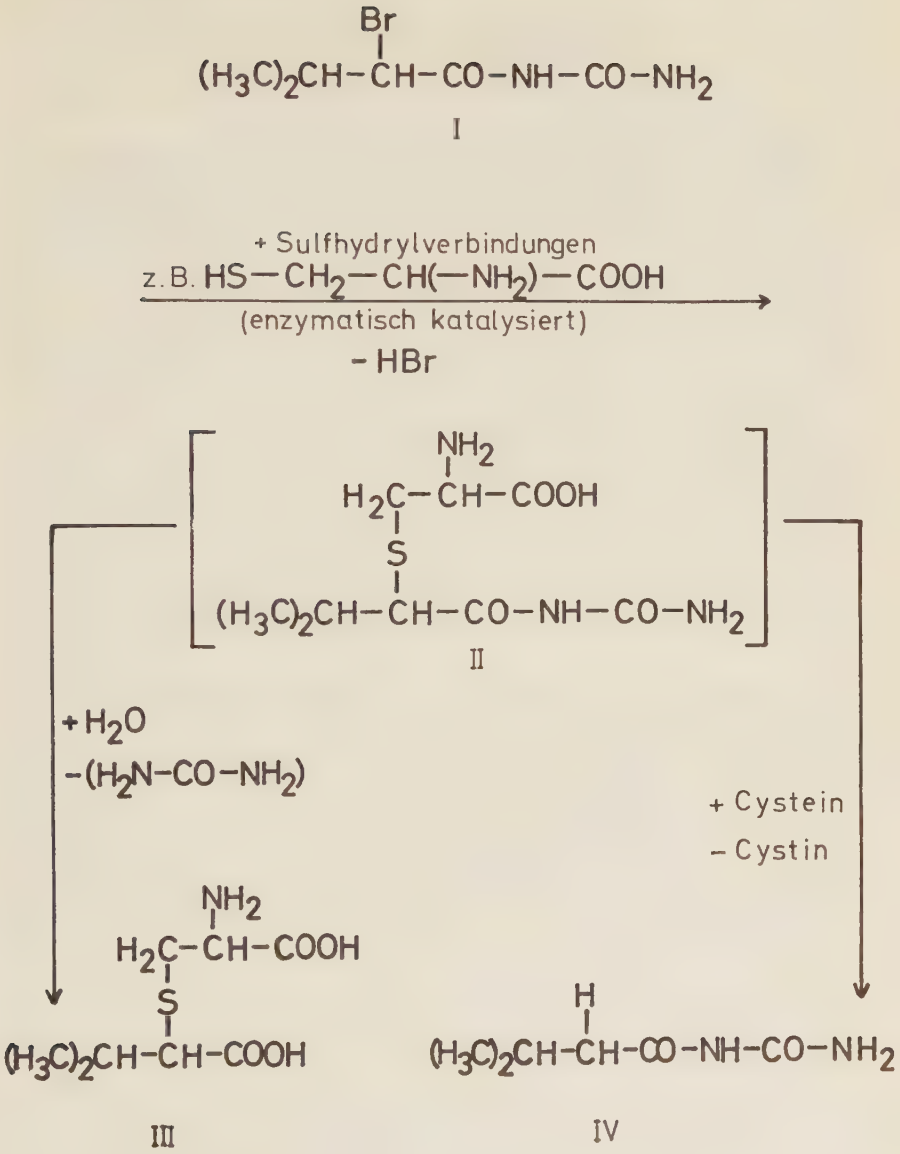
Butler[40] fand bei Carbromal als weiteren Metaboliten eine racemische Form von 2-Brom-2-aethyl-3-hydroxybutyrylharnstoff. Ein analoges Abbauprodukt von Bromisoval ist noch nicht isoliert worden.

Eberhard, Freundt und Langbein[41] fanden bei der DC des ätherischen Auszugs von Männerharn 6 Metaboliten, die sie nicht näher untersuchten.

Es können somit folgende Abbaureaktionen für Bromisoval als wahrscheinlich gelten:

---

36) A. Alka und V. Tamminen, Suomen Kemistilehti 34, No. 1, 9 - 12 (1961) und A. Alka, Ann. Med. exp. Biol. fenn. 41, 95 - 102 (1963)
37) L. Lindfors, R. und A. Ruohonen, Arch. Toxicol. 19, 402 (1962)
38) A. Jindra et al., Pharmaz. 19, 244 - 7 (1964)
39) K. Haruna, J. Biochemistry 49, 388 - 91 (1964)
40) T.C. Butler, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 143, 23 (1964)
41) H. Eberhard, K.J. Freundt und J.W. Langbein, Arzneimittelforsch. 12, 1086 (1962)


Br
(H3C)2CH–CH–CO–NH–CO–NH2
I
+ Sulfhydrylverbindungen
z.B. HS–CH2–CH(–NH2)–COOH
(enzymatisch katalysiert)
- HBr
NH2
H2C–CH–COOH
S
(H3C)2CH–CH–CO–NH–CO–NH2
II
+ H2O
-(H2N–CO–NH2)
+ Cystein
- Cystin
NH2
H2C–CH–COOH
S
(H3C)2CH–CH–COOH
III
H
(H3C)2CH–CH–CO–NH–CO–NH2
IV

Bromisoval (I) reagiert unter der Einwirkung von Leberenzymen mit Cystein (oder einer anderen Sulfhydrylverbindung). Das angenommene Zwischenprodukt (II) wird entweder in S-(Isopropyl-carboxymethyl)-cystein (III) und Harnstoff gespalten oder es entsteht unter reduktiver Abspaltung der Thiolverbindung 3-Methylbutyrylharnstoff (IV).

Inwieweit bei Bromisoval der Wirkungsunterschied von D- und L-Form durch einen stereospezifischen Abbau bedingt ist, wurde nicht untersucht.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Von dem bisher nur in der racemischen Form bekannten Hypnoticum Bromisoval wurden die optisch aktiven Formen dargestellt.

Da eine Trennung des Racemats nicht gelang, wurden die Bromisovalenantiomere aus den Enantiomeren der α-Bromisovaleriansäure dargestellt. Die (-)-α-Bromisovaleriansäure wurde durch fraktionierte Kristallisation des Cinchonidinsalzes, das (+)-Enantiomer über das Brucinsalz in reiner Form gewonnen. Da die Reinigung der α-Bromisovaleriansäureenantiomere bis zum Erreichen der maximalen Drehung ($[\alpha]_D^{20} = \pm 23,0$) fortgesetzt wurde, und bei der Synthese keine Racemisierung auftrat, können auch die erhaltenen Bromisovalenantiomere ($[\alpha]_D^{20} = \pm 29,5$) als weitgehend rein angesehen werden. Die physikalischen Eigenschaften und die Racemisierbarkeit wurden untersucht. Die Konfiguration der Bromisovalenantiomere wurde aus der bekannten Konfiguration der D- und L-Bromisovaleriansäure abgeleitet.

Die sedative Wirkung von D- und L-Bromisoval wurde verglichen durch Bestimmung der hemmenden Wirkung von Bromisoval auf die Krampfhäufigkeit nach Pentetrazolgabe bei Mäusen. Die mittlere effektive Dosis (ED_{50}) betrug für das verwendete L-Bromisoval 57,8 (Konfidenzbereich 50,3 - 66,4) mg/kg, für D-Bromisoval 165,4 (Konfidenzbereich 136,0 - 201,3) mg/kg. L-Bromisoval ist somit bei Mäusen 2,8 (2,3 - 3,6) mal wirksamer als D-Bromisoval.

VIII. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Messung der optischen Aktivität

Die Messung der optischen Aktivität erfolgte mit dem elektrischen Polarimeter der Firma Leitz, Wetzlar, der auf dem Grundtyp des Elektrophotometers "Leifo E" aufgebaut ist.

Temperatur: Alle Werte wurden in einer 2-dm-Küvette mit Kühlmantel gemessen, der an einen Thermostaten angeschlossen war. Die Temperatur der Meßlösung wurde auf 20° gehalten.

Lichtquelle: Als Lichtquelle dient beim "Leifo E" das monochromatische Licht der Hg-Linien 366, 436, 546, 578 nm und der Na-Linie 589 nm. Die Messungen mit Na-Licht waren, wie die untenstehende Tabelle zeigt, von unzureichender Genauigkeit, während die Hg-Linien gleichmäßige Ergebnisse lieferten.

	366 nm	436 nm	546 nm	578 nm	589 nm
1. Messung	155,0	78,7	35,9	30,9	27,5
2. Messung	156,5	79,5	36,2	31,2	31,4
3. Messung	155,8	78,9	36,1	31,4	28,8
4. Messung	156,1	79,4	36,2	31,1	30,1
5. Messung	154,9	78,5	36,0	30,8	28,9
Mittelwert	155,6	79,0	36,1	31,0	29,3
Mittlere Abweichung	0,70	0,43	0,13	0,26	1,46
in %	0,4	0,5	0,4	0,8	5,0

Tab. 6: Meßgenauigkeit bei den verschiedenen Wellenlängen (Spezifische Drehung $[\alpha]^{20}$... von (-)-Bromisoval (Methanol, c = 2)

Aus den Drehwerten, die bei den Hg-Linien 546 nm und 578 nm erhalten wurden, konnten die Werte für die D-Linie nach einem aus der Drude'schen Gleichung abgeleiteten Ansatz[42] berechnet werden:

42) J. Flügge, Grundlagen der Polarimetrie, Carl Zeiss, Oberkochen 1964, S. 62 und 88

$$\frac{[\alpha]^{20}_{578}}{[\alpha]^{20}_{546} - [\alpha]^{20}_{578}} \cdot 0,729 = C$$

$$\frac{C}{C + 1} \cdot [\alpha]^{20}_{546} = [\alpha]^{20}_{589\ (D)}$$

Beispiel: Spezifische Drehung von (-)-Bromisoval $[\alpha]^{20}_{546} = - 36,1$

$[\alpha]^{20}_{578} = - 31,0$

Berechnung von $[\alpha]^{20}_{589}$:

$$\frac{31,0}{36,1 - 31,0} \cdot 0,729 = 4,43$$

$$\frac{4,43}{4,43 + 1} \cdot 36,1 = 29,5$$

Berechnung der spezifischen Drehung: Die spezifische Drehung wurde aus den abgelesenen Drehwerten nach der Biot'schen Gleichung berechnet:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{1 \cdot c}$$

(1 in dm, c in g/ml)

Konzentration: Die Angabe der Konzentration der Meßlösung bei den angegebenen Drehwerten erfolgte, wie üblich, in g/100 ml.

Lösungsmittel: Wenn nicht anders angegeben, wurde die Drehung der α-Bromisovaleriansäureenantiomere in Benzol p.a. (c = 4 - 6), die der Bromisovalantipoden in Methanol p.a. (c = 2), gemessen.

2. Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden, wenn nicht anders angegeben, mit dem Kofler-Mikroskopheiztisch (Leitz Nr. 350) mit abgekürztem Thermometer bestimmt und sind nicht korrigiert. Vergleichsschmelzpunkte wurden außer-

dem nach den Methoden des DAB 6 und des DAB 7 (Schmelzpunkt in der Kapillare, Ziffer 24a) und mit der Kofler-Heizbank bestimmt.

3. Dünnschichtchromatographie

Es wurde mit aktivierten Kieselgel HF_{254} "Merck" - Platten 20 x 20 cm gearbeitet. Sie wurden mit Hilfe der Desaga-Grundausrüstung beschichtet und bei 110° aktiviert.

4. Potentiometrische Bestimmung der Dissoziationskonstante von D, L - Bromisoval

Hierzu wurde der pH-Wert einer 0,01-molaren wäßrigen Bromisovallösung mit der Glaselektrode gemessen. Diese war zuvor gegen zwei Natriumdihydrogenphosphat-Dinatriumhydrogenphosphat-Puffergemische[43] vom pH-Wert 6 bzw. 6,8 eingestellt worden. Für die Herstellung der Meßlösung wurde zweimal umkristallisiertes D, L-Bromisoval verwendet. 10 Messungen ergaben den pH-Wert 5,3. Nach der Gleichung $pK_S = 2pH - lg\ c$ ergab sich als Dissoziationskonstante von Bromisoval $K_S = 2,5 \cdot 10^{-9}$.

5. Versuch der Darstellung eines Alkaloid-Bromisovalsalzes

Brucin, Chinin, Cinchonidin, Ephedrin und Strychnin wurden mit Bromisoval im Molverhältnis 1 : 1 in verschiedenen Lösungsmitteln teils in der Kälte, teils in der Hitze gelöst. Durch Einengen, Ausfällen mit einem anderen Lösungsmittel oder Erkaltenlassen wurde versucht, die Kristallisation eines Alkaloid-Bromisovalsalzes zu erreichen. Die erhaltenen Kristallisate wurden abgetrennt, in Wasser aufgenommen, mit 2n H_2SO_4/Äther ausgeschüttelt und die optische Drehung des Ätherrückstandes gemessen. Sie war in allen Fällen $[\alpha] = 0$. Es hatte sich kein diastereomeres Salz gebildet.

---

43) F.W. Küster, Logarithmische Rechentafeln, W. de Gruyter Verlag, Berlin, 94.- 97. Aufl. 1965

6. Versuch der Darstellung von N-Methylchininium-Bromisovalsalz

N-Methylchininiumhydroxid wurde nach Knabe und Kräuter dargestellt. Zu der gekühlten Lösung von 25,0 g Chinin in 27 ml Methanol wurden 11,3 g Methyljodid gegeben. Das nach 12 stündigem Stehenlassen ausgefallene N-Methylchininiumjodid wurde abgetrennt, mit Methanol/Äther (1 : 1) ausgewaschen und getrocknet (Ausbeute 35,8 g). Dann wurde es in 120 ml Methanol aufgeschwemmt und mit 107,2 g stark basischem Ionenaustauscher "Merck" 2 Stunden lang geschüttelt. Das Austauscherharz wurde von der klaren Lösung abgetrennt, mit Methanol nachgewaschen, das Filtrat in einen Meßkolben von 250 ml gespült und mit Spülflüssigkeit aufgefüllt. 5,0 ml dieser Lösung wurden mit Wasser auf 20 ml verdünnt und mit 0,1 n HCl gegen Tashiro-Mischindikator titriert (Verbrauch: 14,3 ml 0,1 n HCl). 1 ml Lösung enthielt somit 0,286 mVal N-Methylchininiumhydroxid.

Für die folgenden Ansätze wurde jeweils 1,0 g D, L-Bromisoval in 19,3 ml methanolischer N-Methylchininiumhydroxidlösung in der Kälte gelöst (Molverhältnis 1 : 1).

a) Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgezogen. Der ölige Rückstand wurde in 12 ml Äthanol aufgenommen, die Lösung tropfenweise bis zur schwachen Trübung mit Äther versetzt und in der Kälte der Kristallisation überlassen. Es kristallisierten feine farblose Nadeln (Smp. 185°) aus.

b) Die methanolische Lösung wurde im Vakuum auf 10 ml eingeengt und in der Kälte der Kristallisation überlassen. Es entstanden ebenfalls farblose Nadeln (Smp. 188 - 190°).

c) Nach Abdestillieren des Methanols wurde der Rückstand in 20 ml Isopropanol gelöst und die Lösung mit Äther bis zur bleibenden Trübung versetzt. Es entstanden weiße, amorphe Kristalle.

Die Kristallisate von a) bis c) wurden jeweils in Wasser aufgenommen und mit Äther/2n HCl ausgeschüttelt. Dünnschichtchromatographisch wurde nachgewiesen, daß die ätherische Phase kein Bromisoval enthielt. Eine Salzbildung hatte in keinem Falle stattgefunden.

d) 19,3 ml N-Methylchininiumhydroxidlösung und die abgekühlte Lösung von 1,0 g Bromisoval in 250 ml Wasser wurden zusammengegeben und die Lösung bei 40° im Vakuum auf 50 ml eingeengt. Die ausgefallenen farblosen

Kristalle vom Schmelzpunkt 152° wurden dc als D, L-Bromisoval identifiziert. Eine Salzbildung hatte nicht stattgefunden.

7. Versuch der spontanen Kristallisation von D- und L-Bromisoval

Die bei 100° gesättigte Lösung von D, L-Bromisoval in Wasser bzw. Toluol wurde in mehreren Versuchen mit reinem D- bzw. L-Bromisoval angeimpft und langsam erkalten gelassen. Auf diese Weise wurde jeweils dreimal umkristallisiert. Die spezifische Drehung des erhaltenen Bromisovals war in allen Fällen $[\alpha] = 0$.

8. (-)-α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz

98,4 g Cinchonidin wurden in 500 ml warmem, wasserfreiem Aceton suspendiert und die Suspension unter kräftigem Rühren mit der Lösung von 60,0 g racemischer α-Bromisovaleriansäure in 900 ml Aceton vereinigt. Durch rasches Erwärmen auf 60° wurde die Lösung hergestellt, schnell filtriert und sehr langsam auf -5° abgekühlt. Nach mehrstündigem Stehenlassen wurde das in farblosen Nadeln ausgefallene (-)-α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz abgetrennt, mit kaltem Aceton gründlich nachgewaschen und getrocknet. Das bräunliche Filtrat wurde bei 20°/15 Torr auf die Hälfte eingeengt. Es wurde eine zweite Kristallfraktion erhalten, die ebenfalls abgetrennt wurde. Das Filtrat wurde zur Trockne eingeengt. Der Rückstand (84,0 g) wurde auf (+)-α-Bromisovaleriansäure weiterverarbeitet.
Von dem getrockneten Kristallisat der 1. Fraktion wurden 2,0 g in wenig Wasser suspendiert, mit 2n H_2SO_4 angesäuert und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und der Äther abgezogen. Die erhaltene (-)-α-Bromisovaleriansäure (0,66 g) wurde zur Messung des Drehwerts eingesetzt:
$[\alpha]_{546}^{20} = -6,9$.
Die erste Fraktion wurde weiter umkristallisiert, indem das in siedendem Aceton gelöste Salz der Kristallisation in der Kälte überlassen wurde. Jeweils 1,5 - 2 g wurden entnommen und zur Messung des Drehwerts der Säure, wie beschrieben, zerlegt. Nach der 7. Kristallisation blieb der Dreh-

wert konstant:

$$[\alpha]_{546}^{20} = -27,6, \quad [\alpha]_{578}^{20} = -24,1, \quad [\alpha]_{D}^{20} = -23,0.$$

Bei jeder Kristallisation wurde eine 2. Fraktion gewonnen, die wie die Mutterlaugen für den folgenden Ansatz verwendet wurde (siehe Schema S. 42).

Kristallisation	eingesetzt (g)	Ausbeute (g)	$[\alpha]_{546}^{20}$ der Säure	c bei Messung
1.	60,0 Säure + 98,4 Base	62,0	- 6,9	6
2.	60,0	47,0	- 11,7	6
3.	45,0	34,0	- 15,3	6
4.	32,0	25,0	- 19,8	6
5.	23,5	18,5	- 23,2	5
6.	17,0	13,0	- 26,4	4
7.	11,0	7,0	- 27,6	3
8.	5,5	3,8	- 27,6	3

Tab. 7: Ausbeute der (-)-α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalzkristallisationen und Drehwerte der daraus freigesetzten (-)-α-Bromisovaleriansäure

Durchschnittliche Zunahme der spezifischen Drehung pro Kristallisation: $[\alpha]_{546}^{20} = -3,9$.

Durchschnittliche Ausbeute pro Kristallisation 76,5%.

Ausbeute an optisch reinem Salz: 7,0 g = 8,9% der Theorie.

9. (-)-α-Bromisovaleriansäure

Da bei der 7. Kristallisation die maximale optische Reinheit erreicht war, konnten alle Fraktionen der 8. Kristallisation verwendet werden. Gesamtausbeute: 7,0 g. Die Säure wurde daraus, wie bei 8. beschrieben, freigesetzt. Ausbeute: 1,9 g = 72% der Theorie.

10. (-)-α-Bromisovaleriansäurechlorid

1,9 g (-)-α-Bromisovaleriansäure wurden nach sorgfältiger Trocknung mit 2,0 g destilliertem Thionylchlorid und 2 Tropfen Dimethylformamid 30 Min.

unter Feuchtigkeitsausschluß auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Beendigung der SO_2- und HCl-Entwicklung wurde das überschüssige Thionylchlorid bei Raumtemperatur vorsichtig abgezogen. Dann wurde das α-Bromisovalerianylchlorid bei 48°/12 Torr unter Feuchtigkeitsausschluß destilliert. Ausbeute: 1,45 g = 60% der Theorie.

11. (-)-Bromisoval

1,45 g (-)-α-Bromisovaleriansäurechlorid wurden mit 0,72 g getrocknetem Harnstoff (1 : 2 Mol) gut vermischt und bei Raumtemperatur einen Tag stehengelassen. Die erstarrte Masse wurde mit 20 ml Wasser versetzt und die entstandene HCl mit gesättigter $NaHCO_3$-Lösung vorsichtig tropfenweise neutralisiert. Das Rohprodukt wurde abgesaugt und aus siedendem Wasser umkristallisiert, wobei das reine (-)-Bromisoval beim langsamen Erkalten in langen, farblosen Nadeln ausfiel. Ausbeute nach der 1. Umkristallisation: 0,45 g = 34% der Theorie. Die Umkristallisation wurde wiederholt.
Schmelzpunkt des zweimal umkristallisierten (-)-Bromisovals: 165°.
Spezifische Drehung: $[\alpha]_{546}^{20} = -36,1$, $[\alpha]_{578}^{20} = -31,0$, $[\alpha]_{D}^{20} = -29,5$.

12. Rohe (+)-α-Bromisovaleriansäure

Der Verdampfungsrückstand der Mutterlauge aus der 1. Kristallisation von 8. (84,0 g) wurde ebenfalls in wäßriger Suspension mit 2n Schwefelsäure angesäuert und die freigesetzte, mit dem (+)-Enantiomer angereicherte Säure fünfmal mit Äther ausgeschüttelt. Nach zweimaligem Waschen der abgetrennten Ätherphasen mit Wasser, Trocknen, Abdestillieren des Äthers blieb eine dunkelbraune Säure zurück. Sie wurde bei 85°/1 Torr destilliert und in einer gekühlten Vorlage aufgefangen. Bei 85° bis 90° gingen 27,3 g über. Eine bei 120°/1 Torr übergehende Fraktion wurde verworfen. Es handelte sich um eine farblose, ölige Flüssigkeit, die bei -5° nicht erstarrte. Zurück blieb eine schwarze, beim Erkalten glasartig erstarrende Masse.
Spezifische Drehung der destillierten Säure: $[\alpha]_{546}^{20} = +4,5$.

13. (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz

27,3 g destillierte α-Bromisovaleriansäure aus 12. wurden zur besseren Verteilung in 200 ml Äther gelöst und die Lösung zu der Suspension von 58,9 g Brucin in 4,3 l Wasser von 30° gegeben. Unter Umrühren entstand eine klare Lösung, die nach Filtrieren bei 30°/15 Torr auf die Hälfte eingeengt wurde. Beim Abkühlen auf 0° fiel das Salz als farbloser, feinkristalliner Niederschlag aus, der abfiltriert und getrocknet wurde. Ausbeute: 54,0 g. Zur Gewinnung einer 2. Fraktion wurde das Filtrat nochmals um die Hälfte eingeengt, der ausgefallene Niederschlag (12,5 g) ebenfalls abfiltriert und getrocknet. Dann wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft (19,0 g).

In der bei 8. beschriebenen Weise wurde eine zur Messung genügende Menge der (+)-α-Bromisovaleriansäure freigesetzt (aus 2,0 g Salz 0,434 g Säure).

Spezifische Drehung: $[\alpha]_{546}^{20} = +8,5$.

Wie bei 8. wurde das Umkristallisieren so lange fortgesetzt, bis ab der 8. Kristallisation der Drehwert der Säure sich nicht mehr änderte. Umkristallisiert wurde durch Auflösen des Kristallisats in Wasser von 30° und Einengen der Lösung auf die Hälfte. Auch hier wurde bei jeder Kristallisation eine 2. Fraktion gewonnen, die wie die Mutterlauge für den folgenden Ansatz verwendet wurde (siehe Schema S. 42).

Spezifische Drehung der nach der 8. Kristallisation erhaltenen (+)-Säure:
$[\alpha]_{546}^{20} = +27,6$, $[\alpha]_{578}^{20} = +24,1$, $[\alpha]_{D}^{20} = +23,0$.

Kristallisation	eingesetzt (g)	Ausbeute (g)	$[\alpha]_{546}^{20}$ der Säure	c bei Messung
1.	27,3 Säure +58,9 Base	54,0	+ 8,5	4
2.	52,0	39,0	+ 11,5	4
3.	37,0	32,7	+ 17,4	5
4.	30,7	27,7	+ 22,3	4,5
5.	26,2	23,0	+ 24,8	2,5
6.	21,5	19,7	+ 25,9	2,5
7.	18,2	14,0	+ 26,6	2,5
8.	12,5	10,0	+ 27,6	2,5
9.	8,5	5,0	+ 27,6	2,5

Tab. 8: Ausbeuten der (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz-Kristallisationen und Drehwerte der daraus freigesetzten (+)-α-Bromisovaleriansäure

14. (+)-α-Bromisovaleriansäure

Da die Konstanz der Drehwerte bei der 8. Kristallisation erreicht war, konnten alle Fraktionen der 9. Kristallisation zur Freisetzung der reinen (+)-α-Bromisovaleriansäure verwendet werden (insgesamt 10,0 g). Es wurden 2,5 g (+)-α-Bromisovaleriansäure gewonnen (= 78% der Theorie).

15. (+)-α-Bromisovaleriansäurechlorid

Analog 10. wurden aus 2,5 g (+)-α-Bromisovaleriansäure 1,8 g destilliertes Säurechlorid gewonnen (= 54% der Theorie).

16. (+)-α-Bromisoval

Aus 1,8 g Säurechlorid wurden 0,56 g einmal umkristallisiertes (+)-Bromisoval gewonnen (= 34,8% der Theorie).
Schmelzpunkt des zweimal umkristallisierten Präparats: 165°.
Spezifische Drehung des zweimal umkristallisierten Präparats:
$[\alpha]_{546}^{20} = +36,1$, $[\alpha]_{578}^{20} = +31,0$, $[\alpha]_{D}^{20} = +29,5$.

Darstellung von (+)- und (-)-α-Bromisovaleriansäure

I. rac.-α-Bromisovaleriansäure (60 g)
+ Cinchonidin (98, 4 g) in 1, 4 l Aceton bei 60°
abgekühlt auf -5°

II. α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz
1. Fraktion (62, 0 g)
2. Fraktion (11, 0 g) → II. des nächst. Ansatzes
Rückstand der Mutterlauge (84, 0 g) → X.

III.-VII. 6 x umkristallisiert aus Aceton bei 60°
1. Fraktionen (Ausbeuten s. Tab.)
2. Fraktionen → III.-VII. d.n.A.
Rückstände der Mutterlaugen → II. d.n.A.

VIII. (-)-α-Bromisovaleriansäure-Cinchonidinsalz (7, 0 g)
ausgeschüttelt mit 2n H_2SO_4/Äther

IX. (-)-α-Bromisovaleriansäure (1, 9 g)

X. Rohe (+)-α-Bromisovaleriansäure
destilliert bei 85°/1 Torr

XI. angereicherte (+)-α-Bromisovaleriansäure (27, 0 g)
+ Brucin (58, 9 g) in 4, 3 l Wasser bei 30°
eingeengt auf 2 l, abgekühlt auf 0°

XII. anger. (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz
1. Fraktion (54, 0 g)
2. Fraktion (12, 5 g) → XII. d.n.A.
Rückstand der Mutterlauge (19, 0 g) → II. d.n.A.

XIII.-XVIII. 7 x umkristallisiert aus Wasser bei 30°
1. Fraktionen (Ausbeute s. Tab.)
2. Fraktionen → XIII-XVIII. d.n.A.
Rückstände der Mutterlaugen → XII. d.n.A.

XIX. (+)-α-Bromisovaleriansäure-Brucinsalz (10, 0 g)
ausgeschüttelt mit 2n H_2SO_4/Äther

XX. (+)-α-Bromisovaleriansäure (2, 5 g)

17. Schmelzpunkte von (+)-, (-)- und rac.-Bromisoval

	Kofler-Mikroskop-heiztisch	nach DAB 6 und DAB 7 - BRD Ziffer 24a)	Kofler-Heizbank
(+)-Bromisoval	165°	167°	168°
(-)-Bromisoval	165°	167°	168°
Mischschmelzpunkt (+)- und (-)-Bromisoval 1 : 1	160°	-	-
rac.-Bromisoval (Bromural® Knoll)	153°	155°	155°

Tab. 9: Schmelzpunkte nach verschiedenen Methoden

Beobachtung der Kristallformen von (+)- und (-)-Bromisoval auf dem Kofler-Mikroskopheiztisch

0°: Nach Umkristallisieren aus Wasser von 100° bis zu 1 cm lange Nadeln.
ab 120°: Teilweise Umlagerung zu feinen Nädelchen, teilweise Sublimation.
ab 160°: Bei langsamem Temperaturanstieg (1°/Min.) Bildung von langen, derben Nadeln.

18. DC von (+)-, (-)- und rac.-Bromisoval

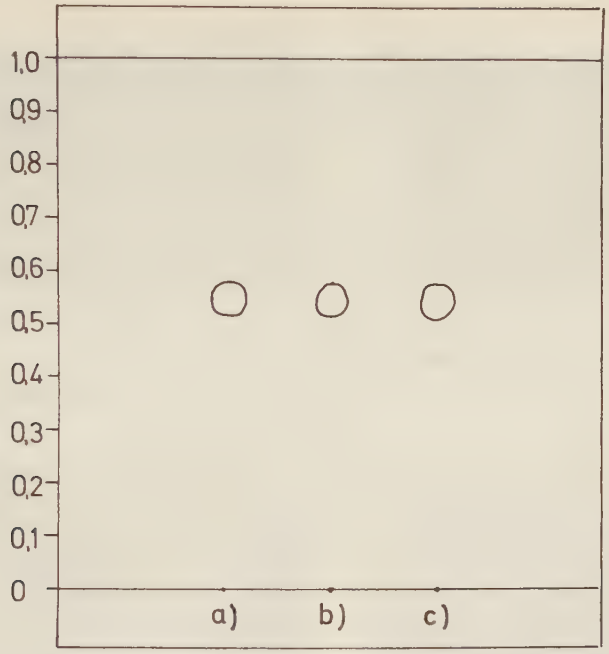


Abb. 2: a) (+)-Bromisoval
b) (-)-Bromisoval
c) rac.-Bromisoval

System: Kieselgel HF_{254}, Cyclohexan-Chloroform-Pyridin (20 + 60 + 5)[44)]
Rf-Wert von (+)-, (-)- und rac.-Bromisoval: 0,55

44) Gadamer's Lehrbuch der chem. Toxikologie, Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen, Bd. II 1966, S. 147

19. IR-Spektren von (+)-, (-)- und rac.-Bromisoval

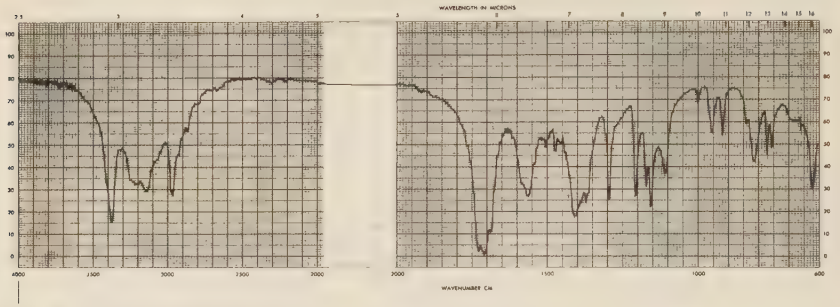


Abb. 3: a) (+)-Bromisoval

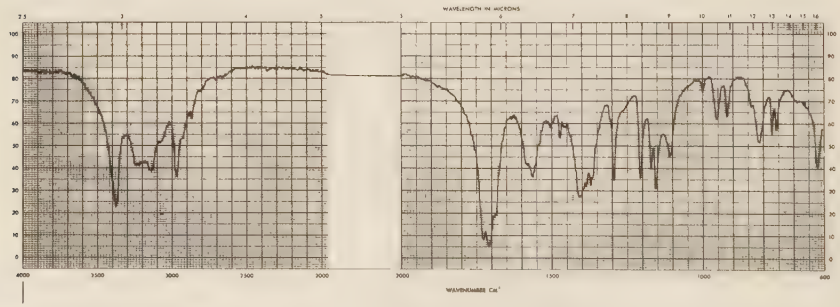


Abb. 4: b) (-)-Bromisoval

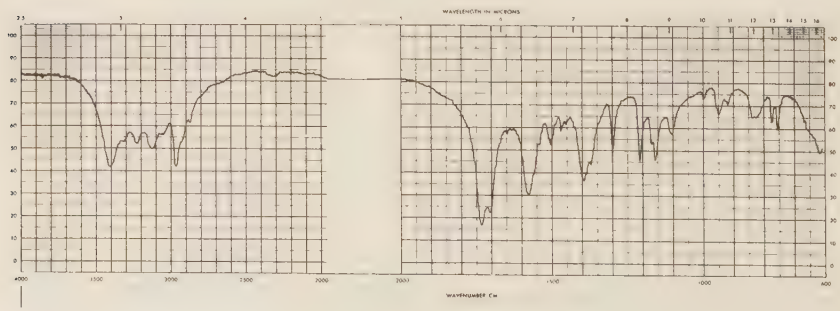


Abb. 5: c) rac.-Bromisoval

Die Spektren wurden im Beckman-Spektrophotometer IR 8 in KBr aufgenommen (1,23 g/600 mg).

	(+)-Bromisoval (-)-Bromisoval	rac.- Bromisoval
NH_2-Val. asym.	3380 s	3405 s
sym.		3310 w
NH-Val. (CO-NH-CO)	3250, 3220	3215
	3140	3125
C=O-Val.	(1729 w)	1734 s
	1710 s	(1708 w)
NH-wagging (CO-NH-CO)	815 s	(825 b)
	(755 w)	755 m

Tab. 10: Zuordnung der IR-Banden

20. Elementaranalyse

Die Bestimmungen wurden im mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach/Ofr. ausgeführt.

	C	H	Br
Bromisoval Ber.:	32,3	4,97	35,8
(+)-Bromisoval Gef.:	32,47	5,08	35,64
(-)-Bromisoval Gef.:	32,35	4,97	35,72
rac.-Bromisoval Gef.:	32,46	5,14	35,96

21. Racemisierung von (-)-Bromisoval in Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung

Je 50 mg nicht hochgereinigtes (-)-Bromisoval ($[\alpha]_{546}^{20} = -33$) wurden in Lösungsmitteln von verschiedenem pH-Wert gelöst. Nach 10 Min. und nach 24 Std. wurde die Drehung der bei Raumtemperatur gehaltenen Lösungen gemessen.

	$[\alpha]_{546}^{20}$ (Methanol, c = 0,5) nach 10 Min.	$[\alpha]_{546}^{20}$ (Methanol, c = 0,5) nach 24 Std.
0,1 n NaOH (methanol.)	± 0	± 0
0,5 n Ammoniak (methanol.)	- 33	± 0
Pyridin/Methanol 10%	- 33	- 33
Dimethylformamid/ Methanol 10%	- 33	- 33
Wasser	- 33	- 33
0,1 n HCl (methanol.)	- 33	- 33

Tab. 11: Racemisierung bei verschiedenen pH-Werten

22. Racemisierung von (+)- und (-)-Bromisoval in Abhängigkeit von der Temperatur

Je 50 mg (+)-Bromisoval ($[\alpha]_{546}^{20}$ = + 30) und (-)-Bromisoval ($[\alpha]_{546}^{20}$ = - 33) wurden in wäßriger Lösung 24 Std. bei verschiedenen Temperaturen gehalten. Nach 10 Min. und nach 24 Std. wurde der Drehwert der bei 30° im Vakuum zur Trockne eingedampften Lösungen gemessen.

		Temperatur in ° C	$[\alpha]_{546}^{20}$ (Methanol, c = 0,5) nach 10 Min.	$[\alpha]_{546}^{20}$ (Methanol, c = 0,5) nach 24 Std.
a) (+)-Bromisoval	I)	20	+ 30	+ 30
	II)	50	+ 30	+ 30
	III)	100	+ 30	- 38
b) (-)-Bromisoval	I)	20	- 33	- 33
	II)	50	- 33	- 33
	III)	100	- 33	+ 38

Tab. 12: Racemisierung bei verschiedenen Temperaturen

23. Vergleich der Zersetzungsprodukte nach 22b III) mit den Reaktionsprodukten der Bromisoval-Nachweise von DAB 6 und DAB 7-BRD

a) Die nach 22b III) ((-)-Bromisoval 24 Std. in Wasser von 100°) erhaltene Lösung wurde im Vakuum bei 40° zur Trockne eingeengt und in Methanol (70%) aufgenommen.

b) Nachweisreaktion DAB 6: 0,1 g Bromisoval (es wurde rac.-Bromisoval verwendet) wurde mit 1 ml 15%iger NaOH gekocht. Das Gemisch wurde neutralisiert, im Vakuum bei 40° zur Trockne eingeengt und in Methanol (70%) aufgenommen.

c) Nachweisreaktion DAB 7-BRD: 0,4 g Bromisoval wurden mit 0,4 g Zinkstaub, 10 ml Äthanol (96%) und 0,4 ml Essigsäure 30 Min. am Rückfluß auf dem Wasserbad erhitzt. Die heiß filtrierte Lösung wurde im Vakuum bei 40° zur Trockne eingeengt und in Methanol (70%) aufgenommen.

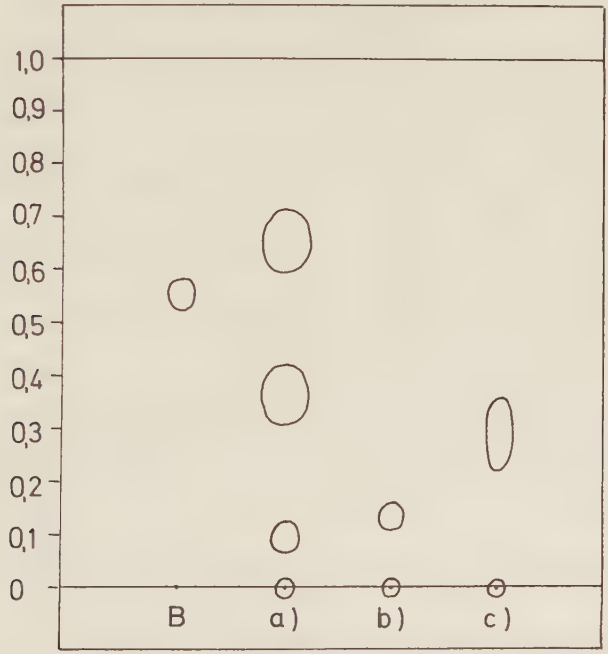


Abb. 6: Dünnschichtchromatogramm der Zersetzungsprodukte von 22 b III) und der Nachweisreaktion von DAB 6 und DAB 7-BRD

Rf-Werte: B = Bromisoval : 0,55
a) : 0 / 0,09 / 0,36 / 0,66
b) : 0 / 0,13
c) : 0 / 0,3

System: Kieselgel HF_{254}, Cyclohexan-Chloroform-Pyridin (20 + 60 + 5).

LITERATURVERZEICHNIS

1) C.M. Hsuch und C.S. Marvel, J. Amer. chem. Soc. 50, 855 (1928)

2) E.C. Kleiderer und H.A. Shonle, J. Amer. chem. Soc. 56, 1772 (1934)

3) W.R. Gibson, W.J. Doran, W.C. Wood und E.E. Swanson, J. Pharmacol. exper. Therap. 125, 23 (1959)

4) J. Knabe und R. Kräuter, Arch. Pharmaz. 298, 1 (1965)

5) J. Knabe und D. Strauß, Angew. Chemie 86, 483 (1968)

6) K. Vogler und M. Kofler, Helv. chim. Acta 39, 1387 (1956)

7) H. Keberle, W. Riess und K. Hoffmann, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 163, 117 (1962)

8) Y.F. Shealy, C.E. Opliger und J.A. Montgomery, J. pharmac. Sci. 57, 757 (1968)

9) F. Saam, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 48, 143 (1907)

10) D.R.P. 185962 (3.3.1906)

11) G. Ehrhart und H. Ruschig, Arzneimittel, Verlag Chemie GmbH, Weinheim (Bergstraße) 1968, S. 302

12) Knoll & Co, D.R.P. 275200

13) F. Saam, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 48, 143 (1907)

14) D'Ans-Lax, Taschenbuch für Chemiker und Physiker 3. Aufl. 1964, Bd. 2

15) E. Fourneau und G. Florence, Bull. soc. chim. France 41, 1518 - 35 (1927)

16) E. Yositomi und K. Watanabe, J. pharm. Soc. Japan 41, 125 (1921)

17) A. Alka, Ann. Med. exp. Biol. fenn. 41, 95 - 102 (1963)

18) A. Watanabe, J. pharm. Soc. Japan 58, 566 (1938)

19) H. Doser, Arch. Pharmaz. 281, 251 (1943)

20) J. Knabe und R. Kräuter, Arch. Pharmaz. 298, 1 (1965)

21) K. Vogler und M. Kofler, Helv. chim. Acta 39, 1387 (1956)

22) P. Leven, T. Mori und L. Mikeska, J. biol. chem. 75, 348 (1927)

23) S. Berlingozzi und M. Furia, Gaz. chim. Ital. 56, 85 (1926)

24) S. Berlingozzi und R. Lenoci, Gaz. chim. Ital. 68, 727 (1938)

25) Y. Ovchinikov, V. Ivavov und A. Kiryushin, Izv. Akad. Nauk. SSSR, Otd. Khim. Nauk. 1962, 2046

26) E. L. Eliel, Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen, Deutsche Ausgabe, Verlag Chemie GmbH, Weinheim (Bergstraße) 1966, S. 100

27) Organicum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 2. Auflage 1964, S. 387

28) Houben-Weyl-Müller, Methoden d. org. Chemie, G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1955, Bd. VIII, S. 469

29) E. Fischer und H. Scheibler, Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 890 (1908)

30) F. Barrow und G. Ferguson, J. chem. Soc. (London) 1935, 410

31) P. Brewster, Nature (London) 166, 180 (1950)

32) H. Krieger und R.v.d. Velden, D. Med. Wochenschrift 1907, Nr. 6

33) L. Cavalli-Sforza, Grundbegriffe der Biochemie, G. Fischer Verlag, Stuttgart 1964

34) S. Takeda, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 21, 203 - 11 (1911)

35) F. Wallheim, Acta physiol. scand., Suppl. 42, 138 - 39 (1957)

36) A. Alka und V. Tamminen, Suomen Kemistilehti 34, No. 1, 9 - 12 (1961) und A. Alka, Ann. Med. exp. Biol. fenn. 41, 95 - 102 (1963)

37) L. Lindfors, R. und A. Ruohonen, Arch. Toxicol. 19, 402 (1962)

38) A. Jindra et al., Pharmaz. 19, 244 - 7 (1964)

39) K. Haruna, J. Biochemistry 49, 388 - 91 (1964)

40) T. C. Butler, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 143, 23 (1964)

41) H. Eberhard, K.J. Freundt und J.W. Langbein, Arzneimittelforsch. 12, 1086 (1962)

42) J. Flügge, Grundlagen der Polarimetrie, Carl Zeiss, Oberkochen 1964, S. 62 und 88

43) F.W. Küster, Logarithmische Rechentafeln, W. de Gruyter Verlag, Berlin, 94. - 97. Aufl. 1965

44) Gadamer's Lehrbuch der chem. Toxikologie, Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen, Bd. II 1966, S. 147

Lebenslauf

Am 3. September 1941 wurde ich, Walther Lang, als Sohn des Verwaltungsbeamten Walter Lang und seiner Ehefrau Lina, geb. Oehling, in Stuttgart geboren.

Ab 1947 besuchte ich die Volksschule in Bodelshausen Kr. Tübingen, wohin meine Eltern als Fliegergeschädigte übergesiedelt waren. Nach dem Umzug nach Tübingen trat ich 1951 in das dortige altsprachliche Uhlandgymnasium ein, an dem ich 1960 das Abitur bestand.

Meine Praktikantenzeit leistete ich in der Hirschapotheke Faurndau Kr. Göppingen ab. 1962 bestand ich in Stuttgart das Vorexamen. Zum Wintersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen zum Studium der Pharmazie, das ich im Frühjahr 1966 mit dem Staatsexamen abschloß.

Nach einer halbjährigen Tätigkeit als Kandidat der Pharmazie in öffentlichen Apotheken begann ich am 15. Oktober 1966 unter der Anleitung von Herrn Professor Auterhoff am Pharmazeutischen Institut Tübingen mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation. Zum Sommersemester 1967 erhielt ich eine Stelle als wissenschaftliche Hilfskraft. Die Arbeit wurde im Wintersemester 1968/69 abgeschlossen.

Im Juli 1966 heiratete ich Fräulein Elke Schönenberger. Wir haben eine Tochter.

Meine akademischen Lehrer waren außer Herrn Professor Dr. H. Auterhoff die Herren Professoren und Dozenten E. Graf, W. Hückel, H. Möhrle, F. Moll (Pharmazie); M. Hanack, E. Müller, W. Rüdorff (Chemie); E. Bünning, A. Grahle, K. Mägdefrau, H. Metzner (Botanik); K. Hummel (Pharmakognosie); F. Lembeck, H. Uehleke (Pharmakologie); G. Weitzel (Physiol. Chemie); R.E. Bader (Hygiene); H. Krüger (Physik).